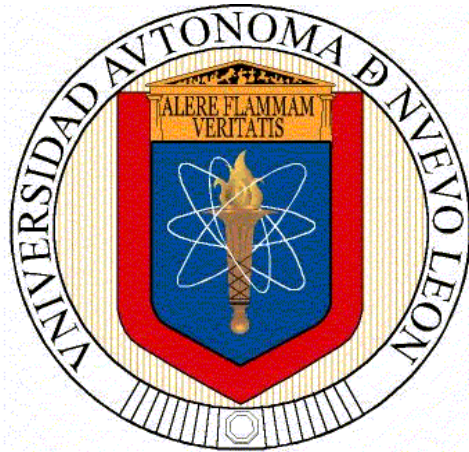


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**TESIS**

***ESTUDIO COMPARATIVO DE FILTRACIÓN BACTERIANA ENTRE  
CEMENTOS SELLADORES APICALES: MTA, BCC.RRM PUTTY  
ENDOSEQUENCE Y BIODENTINE.***

**POR**

**MANUEL VICENTE DE LA SANTÍSIMA TRINIDAD RODRIGUEZ  
TURMERO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD  
EN ENDODONCIA**

**JULIO 2012**



***ESTUDIO COMPARATIVO DE FILTRACIÓN BACTERIANA ENTRE  
CEMENTOS SELLADORES APICALES: MTA, BCC.RRM PUTTY  
ENDOSEQUENCE Y BIODENTINE.***

**Comité de Tesis**

---

C.D.E.E.M.C. Idalia Rodríguez Delgado PhD  
Directora de Tesis

---

C.D. M.Sc. Jorge Jaime Flores Treviño  
CoDirector de Tesis

**ASESORES**

---

C.D.M.C. Myriam de la Garza Ramos PhD  
Asesor en Microbiología

---

C.D.E.O.M.C. Hilda H. Torre Martínez PhD  
Asesor Metodológico

---

M.S.P. Gustavo Israel Martínez González  
Asesor Estadístico

***ESTUDIO COMPARATIVO DE FILTRACIÓN BACTERIANA ENTRE  
CEMENTOS SELLADORES APICALES: MTA, BCC.RRM PUTTY  
ENDOSEQUENCE Y BIODENTINE.***

---

C.D.M.E.O. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda  
**Subdirector de la Subdivisión de Estudios de Posgrado de Odontología de la  
Universidad Autónoma de Nuevo León**

---

C.D. M.Sc. Jorge Jaime Flores Treviño  
**Coordinador del Posgrado de Endodoncia**

## APROBACIÓN DE TESIS

LOS MIEMBROS DEL JURADO ACEPTAMOS LA INVESTIGACIÓN Y  
APROBAMOS EL DOCUMENTO QUE AVALA A LA MISMA; COMO  
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN  
CIENCIAS ODONTOLÓGICAS CON ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

---

PRESIDENTE

-----

---

SECRETARIO

-----

---

VOCAL

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León por el apoyo ofrecido para este estudio.

Quisiera agradecer a mi Director de Tesis, la Dra. Idalia Rodríguez, a mi Co-Director el Dr. Jorge Jaime Flores al igual que a los Investigadores Asociados Dr. Antonio Herrera, Dr. Oscar Bolaños, Lic. Gustavo Martínez, QBP Vilma Rosa Suarez Martínez, Dra. Hilda Torre por su increíble aportación en cada punto de esta investigación.

También extendiendo mi agradecimiento a mis compañeros del posgrado los cuales han trabajado conmigo incansablemente y han aportado gran cantidad de ideas y de materiales para la realización y culminación de esta tesis.

A mi esposa María Gabriela Olivares de Rodríguez por su apoyo incondicional durante todo el proceso de la investigación, trabajando hombro a hombro conmigo y siendo mi piedra de apoyo para el éxito de este trabajo.

A mi Familia por el incansable esfuerzo y apoyo para alcanzar mis metas, sin el apoyo de ellos no hubiese podido realizar este sueño.

Por ultimo a Dios el cual todo es dedicado a Él y con su ayuda seguir con fuerza día a día para ser mejor y ayudar a la mayor cantidad de personas con buena fé y disposición.

## Lista de Figura

<u>Figura</u>	<u>Pagina</u>
1.- Colocación caldo de tripticaseina de soya .....	31
2.- Inoculación de bacteria camara deanarobiosis.....	31
3.- E.faecalis.....	31
4.- Inoculación E. faecalis en placas de Agar Sangre.....	31
5.- Crecimiento E. faecalis en tubo Eppendorf con caldo de tripticaseina de soya...32	
6.- Agregación bacteriana en tubo Eppendorf .....	32
7.- Grupo de dientes de MTA .....	33
8.- Grupo de dientes RRM.....	33
9.- Grupo de dientes Biodentine.....	33
10.- 3 grupos de cementos.....	33
11.- Motor rotatorio Root zx II para la preparación endodóntica de los dientes con limas rotatorias de Endosequence de Brassler.....	34
12. Limas rotatorias Endosequence Med .....	34
13.- Corte de ápice con fresa zekrya.....	35
14.- Corte 3mm apicales.....	35
15.- Medición del diente para la estandarización.....	35
16.- Recipiente de vidrio con agua y un grupo de dientes para esterilización.....	36
17.- Todos los recipientes para cada grupo para esterilización.....	36
18.- Eppendorf superior.....	37
19.- Cementado diente al Eppendorf.....	37
20.- Eppendorf inferior.....	37
21.- Columna preparada con diente.....	37
22.- Grupo MTA con gutapercha 3mm corto.....	38
23.- Cemento RMM en ápice .....	38
24.- Grupo Biodentine.....	38
25.- Colocación de dientes con cemento en gasas húmedas para fraguado.....	38
26.- Manitol Rojo Fenol.....	39
27.- Agua bidestilada.....	39
28.- Pesado en gramos manitol rojo fenol.....	39
29.- Mezcla caldo manitol con rojo fenol.....	39

30.- Colocación para esterilización.....	39
31.- Autoclave.....	39
32.- Caldo manitol rojo fenol estéril.....	40
33.- Colocación caldo en eppendorf inferior.....	40
34.- Prueba de esterilidad.....	40
35.- Preparación de las columnas con los diente.....	40
36.- Vaciado de Eppendorf semanal.....	40
37.- Colocación Eppendorf con caldo fresco estéril semanalmente.....	40
38.- Preparación dientes para inoculación.....	41
39.- Colocación rojo fenol Eppendorf inferior.....	41
40.- Columna preparada.....	41
41.- Inoculación <i>E. faecalis</i> dentro del conducto.....	41
42.- Separación en grupos.....	42
43.- Cambio de Color por contaminación.....	42
44.- Prueba de esterilidad semanal.....	42
45.- Separación especímenes contaminados.....	42
46.- Colocación punta de papel contaminada en agar tripticaseína de soya.....	42
47.- Muestras no filtradas.....	43
48.- Muestras con filtración.....	43
49.- Toma de muestra contaminada con asa estéril .....	43
50.- Líquidos para coloración de Gram.....	43
51.- Preparación gel de Agarosa.....	45
52.- Gel de Agarosa.....	45
53.- Cámara de electroforesis BioRad.....	45
54.- Electrodo en cámara de electroforesis.....	45
55.- PCR <i>E. faecalis</i> .....	45

## Índice

Sección	Página
AGRADECIMIENTOS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	II
RESUMEN .....	III
ABSTRACT.....	IV
1. INTRODUCCIÓN .....	12
2. HIPÓTESIS.....	13
3.OBJETIVO.....	14
3.1 Objetivo general	
3.2 Objetivos particulares	
4. ANTECEDENTES.....	15
4.1 Introducción a fracasos Endodonticos .....	15
4.2 MTA .....	15
4.2.1 Biodentine.....	18
4.2.2 RRM putty Endosequence.....	26
4.3 Cirugía Apical.....	28
4.2.4 Resección ápice radicular.....	29
4.4 Enterococcus <i>faecalis</i> .....	30
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
5.1 Activación de Cepas .....	31
5.2 Elaboración mezcla bacteriana .....	32
5.3 Preparación de los órganos dentarios.....	33
5.3.1 Tamaño de Muestra.....	33
5.3.2 Procedimiento Endodóntico.....	34
5.3.3 Procedimiento Quirúrgico .....	35
5.3.4 Esterilización de los órganos dentarios.....	36
5.4 Preparación de Columnas de Ependorf.....	37
5.4 Colocación de los Cementos.....	38
5.5 Preparación del Caldo de Manitol Rojo Fenol.....	39

5.6 Inoculación de los especímenes y colocación de soluciones.....	41
5.7 Toma de muestra.....	42
5.8 Determinación de resultados.....	43
5.9 Reacción en Cadena de la taq polimerasa (PCR) .....	44
 6. RESULTADOS .....	 46
6.1 Filtración de las piezas según el cemento empleado Diciembre 2011.....	46
6.2 Días de Filtración de las piezas según el cemento empleado, Diciembre 2011...	48
6.3 Rango de días de Filtración según el cemento empleado, Diciembre 2011.....	49
6.4 Prueba de Normalidad Shapiro-Wilk Días de filtración según cemento, Diciembre 2011.....	50
6.5 Homogenidad del intervalo de confianza (95% de confiabilidad según el tipo de cemento empleado, diciembre 2011.....	50
6.6 Variable dependiente: Días de filtración, Variable independiente: Cemento.....	51
6.7 Planteamiento de las hipótesis.....	51
6.7.1 Estadística de prueba.....	51
6.7.2 Distribución o presentación de la prueba.....	51
6.7.3 Criterio de decisión.....	52
6.8 Estadística de prueba calculada.....	52
6.8.1 Análisis de varianza.....	52
6.8.2 Prueba HSD de Tukey.....	52
 7. DISCUSIÓN.....	 54
 8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	 58
 9. BIBLIOGRAFIA .....	 59



## Resumen

El propósito de esta investigación fué comparar la capacidad de sellado de 3 materiales de Biosilicato en los cuales tenemos RRM putty (Brassler), Biodentine (Septodont) y MTA (Angelus) en contra de la filtración *E. faecalis*.

La Metodología se dio activaron cepas de *E. faecalis*, se prepararon los dientes para la obturación retrógrada con estos cementos, se esterilizaron los órganos dentarios y se prepararon las columnas de Eppendorf para albergar las bacterias en contacto con el ápice y el cemento. En la parte coronal el caldo de manitol rojo fenol, en caso de que haya filtración bacteriana este cambiara de color de rojo a amarillo.

La inoculación se dio a través de la corona dentro del conducto en contacto con el cemento y el ápice en contacto con el rojo fenol para que solo estuviese en contacto con las paredes del diente y no hubiese filtración a través de las paredes del tubo eppendorf.

Los resultados se determinaron por el cambio de coloración del caldo de manitol rojo fenol en los cementos donde hubo filtración bacteriana por *E. faecalis*. En los cuales se les realizo PCR para verificar que la filtración se dio por medio del *E. faecalis*. Utilizando Anova y prueba t de diferencia de media con un 95% de confiabilidad nos dio como resultados en este estudio, que los tres materiales a base de biosilicatos no evitan la filtración bacteriana de *E. faecalis* ya que presentaron filtración desde el día 4.

En Conclusión se observo filtración de todos los cementos hasta el día 20 posteriormente no se demostró filtración bacteriana con ninguno de los cementos. El cemento que mostro menor filtración bacteriana contra *E. faecalis* fue el RRM putty seguido de Biodentine y por ultimo el MTA aunque no hay diferencia estadísticamente significativa entre los 3 cementos.

Director de Tesis: Dra. Idalia Rodriguez\_\_\_\_\_

Co-Director: Dr. Jorge Jaime Flores\_\_\_\_\_

## Abstract

The purpose of this investigation was to compare the sealing ability of 3 Biosilicates cements including RRM putty (Brassler), Biodentine (Septodont) and MTA (Angelus) against *E. faecalis*.

The Methodology of the investigation began activating the bacteria *E. faecalis*, then the teeth were prepared to receive a retroobturation and the cements, then the eppendorf columns were prepared to receive in one end the bacteria in the coronal part in contact with the cements and in the other end of the column in contact with the cement in the apical portion the red phenol that will change its color from red to yellow if it comes in contact with the bacteria.

The results were determined by the change of color in the red phenol that had microleakage by the *E. faecalis*. In which it was used PCR to verify that the microleakage was made from *E. faecalis* and no other bacteria.

This results indicate that the 3 biosilicates cements do not avoid microleakage against *E. faecalis* since it had leakage since the day 4.

In Conclusion was observed filtration in all the cements until day 20 and after there was not any more filtration observed in any of the cements. The cement that show less filtration against *E. faecalis* was RRM putty Endosequence followed by Biodentine and last MTA but there were no statistical difference between these 3 cements

## **Introducción**

El tema seleccionado se dio gracias a la preocupación que tienen los Endodoncistas para encontrar un material que sea adecuado para realizar una obturación retrógrada, tanto en su parte de manipulación, colocación y biocompatibilidad, como en su parte de contener la filtración bacteriana.

Esta idea surgió porque muchos Odontólogos se encuentran con la incertidumbre de que material sería el ideal para diferentes circunstancias como lo pueden ser recubrimiento pulpar directo, perforaciones, resorciones y en retroobturaciones apicales.

Para encontrar un material que sea ideal para todas los procedimientos antes especificados, este debe ser resistente a la filtración bacteriana.

El MTA es el mas aprobado y estudiado en la literatura, aunque su manipulación es algo criticada, debido a esta razón se eligieron dos cementos utilizados para las mismas especificaciones que el MTA pero con una manipulación mas sencilla, los cuales se comparara la microfiltración bacteriana entre los tres cementos ya que esto es fundamental para el éxito del tratamiento.

Se logro con este estudio tener una idea mas clara de cual cemento elegir para los diferentes procedimientos odontológicos y cuál de estos es capaz de contener la filtración bacteriana en la colocación en una retroobturación apical y así aumentar el éxito en los tratamientos, disminuir el estrés de colocación y ofrecer un mejor tratamiento a los pacientes.

El diseño del estudio fue Comparativo, Abierto, Experimental, Prospectivo y Longitudinal.

## **Hipotesis**

La hipótesis de trabajo de investigación fue que los Cementos selladores MTA, Biodentine y RRM no presentan filtración en contra de E. Faecalis en dientes unirradiculares extraídos.

## **Objetivos**

### **Objetivo General:**

Evaluar la filtración bacteriana de diferentes cementos selladores apicales a base de silicato tricalcico, MTA, Biodentie y RRM putty en contra del E. Faecalis.

### **Objetivos Específicos:**

Analizar la filtración bacteriana del E. *faecalis* después del sellado con MTA, en la porción apical después de la apicectomía de dientes extraídos.

Verificar la filtración bacteriana del E. *faecalis* después del sellado con Biodentine, en la porción apical después de la apicectomía de dientes extraídos.

Determinar la filtración bacteriana del E. *faecalis* después de obturar con RRM (putty), en la porción apical después de la apicectomía de dientes extraídos.

Comparar los resultados obtenidos

## **ANTECEDENTES.**

La mayoría de los fracasos endodónticos se producen como consecuencia de las fugas de sustancias irritantes en los tejidos periapicales (siqueira, 2008; mann et al., 2008; torabinejad and ford, 1996)

Material de obturación retrógrada debe sellar las vías de comunicación entre el sistema de conductos radiculares y los tejidos circundantes. También debe ser no tóxico, no cancerígeno, no genotóxicos, biocompatible, insoluble en los líquidos tisulares, y estable dimensionalmente. Además, la presencia de humedad no debe afectar a su capacidad de sellado, sino que debe ser fácil de usar y ser radiopaco para reconocimiento en las radiografías. Ribeiro (2008; Enkel et al., 2008)

### **MTA: Mineral trióxido agregado.**

Ha sido recomendado para recubrimiento pulpar, pulpotomía, formación de la barrera apical en dientes con ápices abiertos, reparación de perforaciones radiculares, y la obturación del conducto radicular (Moretton et al. 2000) MTA se desarrolló y recomendó inicialmente como un material de relleno en el ápice radicular y, posteriormente, se ha utilizado para recubrimiento pulpar, pulpotomía, apexogénesis, formación de la barrera apical en dientes con ápices abiertos, reparación de perforaciones radiculares, y como material de obturación del conducto radicular. MTA ha sido reconocido como un material bioactivo. (Torabinejad and Chivean 2009; Roberts et al 2008.)

### Propiedades químicas

Polvo de MTA contiene finas partículas hidrofílicas que fraguan en presencia de humedad. Varios líquidos se ha empleado para hidratar polvo de MTA.

Contiene óxido de calcio (CaO) y silicio (SiO), así como el óxido de bismuto.

MTA se comercializa actualmente en dos formas: gris (GMTA) y blanco (WMTA) donde hay reducción de las cantidades de hierro, aluminio y magnesio. (Asgary et al 2005; Camilleri et al 2005; Asgary et al 2006; Bel'ó-Reyes IA et al 1993.)

GMTA básicamente consiste y silicato tricálcico y óxido de bismuto dicálcico, mientras que WMTA está compuesto principalmente de silicato tricálcico

y óxido de bismuto. (Asgary et al 2005; Camilleri et al 2005; Asgary et al 2006; Belí'o-Reyes IA et al 1993.)

Cuando el polvo de MTA se mezcla con agua, el hidróxido de calcio (CH) y silicato de calcio se hidrata en su proceso de formación y, finalmente, transformarse en un sólido poroso y gel cristaliza. La proporción de silicato de calcio disminuye debido a la formación de un precipitado de calcio. El calcio precipitado produce CH, que es la causa de la alta alcalinidad de MTA después de la hidratación. (Camilleri, 2007)

Bismuto afecta la precipitación CH después de la hidratación del MTA. Dado que el óxido de bismuto se disuelve en un medio ácido, se ha sugerido que la colocación de MTA en un ambiente ácido, tales como tejidos inflamatorios podría resultar en la liberación de óxido de bismuto. Esto podría disminuir la biocompatibilidad del MTA porque el óxido de bismuto no fomenta la proliferación de las células en cultivo celular. (Camilleri, 2007)

#### Propiedades físicas

La hidratación del MTA se transforma de un polvo a un gel coloidal que solidifica en una estructura dura.

Características de la mezcla puede ser influenciada por el polvo / líquido, el método de mezcla (es decir, la cantidad de aire atrapado), la presión utilizada para la condensación, la humedad del medio ambiente, el tipo de MTA, el tipo de medio de almacenamiento, el pH valor del medio ambiente, el tipo de vehículo, la longitud de tiempo entre la mezcla y la evaluación, el grosor del material, y la temperatura. (Dammaschke et al 2005)

#### Ajuste de la hora

MTA se prepara mezclando el polvo con agua estéril en una proporción polvo a líquido de 3:1 . (Gancedo-Caravia L and Garcia-Barbero, 2006)

El ajuste de la hora media de la MTA es de  $165 \pm 5$  minutos, lo que es más largo que la amalgama, Súper EBA, y de restauración material intermedio (IRM) (Torabinejad et al, 1995).

#### Solubilidad

La relación agua-polvo podría influir en la cantidad de solubilidad. De hecho, a mayor polvo en proporción con agua aumentó la porosidad y la solubilidad del MTA.

Los autores informaron que el uso de más agua aumentaría la liberación de calcio del MTA. La adición de óxido de bismuto a MTA, que es insoluble en agua, es otra causa de insolubilidad MTA (Hoen mm and Pink, 2002)

En un experimento sobre la hidratación del MTA, Camilleri. confirmó la reacción del óxido de bismuto con calcio y silicato de contenidos de la MTA (Camilleri, 2007)

Solubilidad de un material sólido se define como la cantidad de una sustancia que puede ser disuelto en una cantidad dada de disolvente. Sin embargo, la medición de diferencia de peso antes y después del almacenamiento del material en el agua no podría dar lugar a la solubilidad, porque las partículas del material podría desprenderse del cemento durante el almacenamiento o el cemento pueden absorber el agua.

La liberación de calcio desde MTA podría estar influenciada por las condiciones clínicas (Orstavik, 1983)

#### Resistencia a la compresión

La resistencia a la compresión de la MTA es significativamente menor que el de la amalgama, IRM y Super EBA después de 24 horas. Sin embargo, después de 3 semanas, no hay diferencia significativa entre el Super EBA, IRM y MTA en términos de resistencia a la compresión (Camilleri et al, 2005)

MTA está compuesto principalmente de tricálcico silicato y dicálcico silicato con la adición de óxido de bismuto. Debido a que la tasa de hidratación del silicato dicálcico es más lento que el de silicato tricálcico, la resistencia a la compresión su concentración, de MTA alcanzan su máximo nivel varios días después de la mezcla. (Sluyk et al, 1998; Torabinejad et al, 1995.)

Otra experiencia reciente reveló que el mantenimiento de WMTA en condiciones secas disminuye su resistencia a la compresión (Chogle et al, 2007). Incluso las muestras en las cuales se mantiene húmedo después de la mezcla muestran variaciones en la resistencia a la compresión, dependiendo de la cantidad de tiempo transcurrido entre la mezcla y el examen. Las muestras que se mantuvieron durante 2-7 días en la humedad mostró mayor resistencia a la compresión de las muestras de cuatro horas. (Chogle et al, 2007).



### Resistencia a la flexión

Torabinejad y Chivian recomiendan colocar una bolita de algodón húmedo sobre GMTA cuando se utiliza para la reparación de la perforación, recubrimiento pulpar, o un tapón apical. la colocación de una bolita de algodón húmedo sobre MTA para las primeras 24 horas aumenta su resistencia a la flexión. (Walker et al, 2006; torabinejad and Chivian, 1999).

### Desplazamiento

MTA con 4 mm de espesor de la barrera apical ofrece más resistencia significativa a los desplazamientos que el de 1 mm de espesor. Esto sugiere que el espesor de la MTA afecta directamente a su desplazamiento cuando se utiliza como barrera apical (Hachmeister Et Al, 2002)

### Resistencia a la fractura

Las investigaciones con WMTA o GMTA como una barrera apical y llenar el resto de la canal con materiales diversos mostró que las resinas compuestas aumentar significativamente la resistencia a la fractura en comparación a las raíces que están llenos de otros materiales. (Lawley et al, 2004)

### Efecto Antibacterial y Anti fúngico

Se ha reportado que el MTA tiene efecto antimicrobial limitado contra ciertos microorganismos. WMTA inhibe el crecimiento bacteriano y mezclado con CHX mostro significativamente más efecto antimicrobial que con Agua. Especies de bacterias, E. faecalis requiere una mayor concentración de MTA para la inhibición del crecimiento. Sin embargo, una investigación reciente informó similares propiedades anti-bacterianas para ambos tipos de WMTA y GMTA. (Estrela et al, 2006).

### **Biodentine**

Es un nuevo material que puede conciliar altas propiedades mecánicas con excelente biocompatibilidad, como también un comportamiento bioactivo. Es basado en una formulación de Calcio-silicato la cual es adecuado como un material de reemplazo para la dentina en cualquier situación en la que esta este dañada. (Septodont)

En adición a la composición basada en  $\text{Ca}_3\text{SiO}_5$  agua química lo cual brinda la alta compatibilidad de cementos ya conocidos como el MTA. Este producto incrementa las propiedades físico-químicas (menor tiempo de fraguado, alta fuerza mecánica) lo cual lo hace fácil de manejar. También el sellado de este biomaterial ha sido evaluado equivalente a ionómeros de vidrio sin requerir ningún acondicionamiento de la superficie dentinaria. Resistencia a la filtración y estructura mecánica mejoraran a la semana después de la colocación. (Septodont)

Formación de Dentina fue demostrada en ratas, exhibiendo gran cantidad y calidad de dentina protectora en recubrimiento pulpar directo. En casos de recubrimiento pulpar directo y pulpotomías en cerdos, la biocompatibilidad con la pulpa permite un contacto directo con fibroblastos, con respuesta inflamatoria limitada comparada con los controles. La formación de un puente de dentina densa regular es histológicamente demostrado en el periodo de un mes. (Septodont)

Es un material ideal como sustituto permanente de la dentina y sustituto temporal de esmalte. También tiene 100% de éxito en recubrimiento pulpar directo en adultos presentando pulpa sana. (Septodont)

Es utilizado en todos los casos en el cual la dentina está expuesta como sustituto de esta: Base cavitaria para composite, recubrimiento pulpar directo, material reparador endodóntico (perforación, pulpotomía, obturación retrograda y apexificación). (Septodont)

#### Tecnología Activa Biosilicato

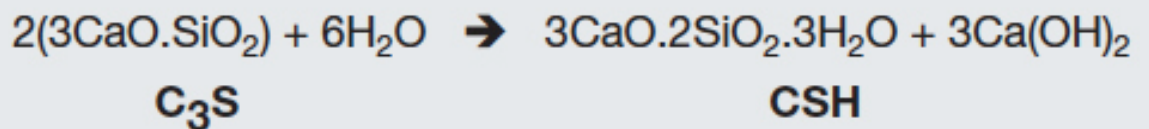
El objetivo inicial era desarrollar un material basado en la química mas biocompatible de materiales dentales: silicato de calcio que puede sellar en presencia de agua. Aunque reconocidos como altamente bioactivos y biocompatibles, todos estos materiales les falta reactividad, con periodos muy largos de fraguado (mas de 2 hrs), bajas propiedades mecánicas y un manejo complicado (dependiente del ratio agua de un arenado a una consistencia pastosa). (Septodont)

Cementos a base de silicato de calcio están basados en el cemento Portland. Esto implica que todos estos productos inherentemente contienen mezclas impurificadas de silicato de Calcio (C3S+C2S) aluminatos de Calcio (C3A) aluminato-ferritos de Calcio (C4AF) sulfatos de Calcio (CaSO4-gypsum), juntos con bajas concentraciones de impurezas metálicas derivadas de minerales naturales usando materiales crudos. (Septodont)

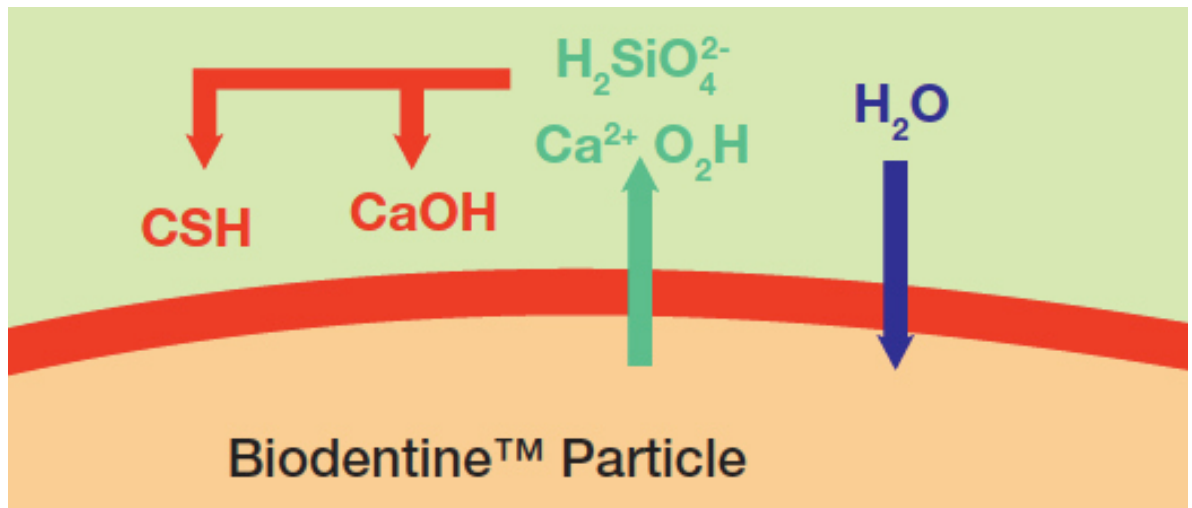
Este producto es capaz de asegurar la pureza del silicato de Calcio de la formula y la ausencia de cualquier aluminato y sulfato de Calcio del producto final. (Septodont)

- Reaccion de Colocación

El calcio de silicato tiene la habilidad de interactuar con agua llevando al fraguado y endurecimiento del cemento. Esta hidratación del silicato tricalcico ( $3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2 = \text{C}_3\text{S}$ ) lo cual produce un gel de silicato de calcio hidratado (CSH gel) e hidróxido de Calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ). (Septodont)



Este proceso de disolución en la superficie de cada grano de silicato de Calcio. El gel de calcio de silicato hidratado y el exceso de hidróxido de Calcio tienden a precipitarse en la superficie de las partículas y en los poros del polvo, debido a saturación del medio. Este proceso de precipitación es reforzado en contenidos bajos en agua. (Septodont)



El grano de tricalcio silicato no reaccionado es envuelto por capas de gel hidratado de silicato de calcio, con son relativamente impermeables al agua, por ende disminuyen los efectos de reacciones mas adelante. El gel de C-S-H es apto para hidratación permanente del silicato tricalcico, el cual gradualmente llena entre los espacios de los granos de silicatotricalcico. El resultado del proceso de endurecimiento por la formación de cristales que son depositados en una solución supe saturada. (Septodont)

- Formula de la Biodentina.

En orden para llegar a una formulación en el cual selle en 12 minutos y propiedades mecánicas altas en el rango de dentina natural, silicato de calcio no se podría usar solo. (Septodont)

Usualmente el cemento de silicato de Calcio tiene rangos de fraguado de horas, lo cual es mucho tiempo en muchos protocolos de clínica practica. (Septodont)

Acortar el tiempo de fraguado fue logrado por una combinación de diferentes efectos. Primero el tamaño de partícula influye en gran proporción al tiempo de fraguado, mientras mas alta la superficie, menos el tiempo de fraguado. También adhiriendo cloridio de Calcio al componente liquido acelera el sistema. Finalmente la

disminución del contenido del líquido en el sistema disminuye el tiempo de fraguado en un rango de 9 a 12 minutos. (Septodont)

Powder	
Tri-calcium Silicate (C3S)	Main core material
Di-calcium Silicate (C2S)	Second core material
Calcium Carbonate and Oxide	Filler
Iron Oxide	Shade
Zirconium Oxide	Radiopacifier
Liquid	
Calcium chloride	Accelerator
Hydrosoluble polymer	Water reducing agent

Poder llegar a una fuerza mecánica es algo difícil para estos sistemas.

La primera son los compuestos de aluminatos los cuales hacen frágil al producto. Biodentine controla la pureza con la tecnología Activa de Biosilicato que consiste en eliminar aluminatos y otras impurezas.

La segunda era ajustar la distribución del tamaño de la partícula para poder tener una densidad de polvo óptima. El sistema adicional seleccionado fue carbonato de Calcio por tanto su biocompatibilidad como su contenido de Calcio.

La paradoja de los sistemas de silicato de calcio también es agua, la cual es esencial para el endurecimiento del producto, y también influye en la dureza del material. Por otro lado exceso de agua en el sistema va a crear alguna porosidad, significativamente degradando macroscópicamente la resistencia mecánica, pero una disminución de agua va a reducir la posibilidad de una mezcla homogénea. La adición de sistemas de polímeros hidrosolubles descritos como “agentes reductores de agua” ayudan a mantener el balance entre el bajo contenido de agua y la consistencia de la mezcla.

La radiopacidad es obtenida agregando óxido de zirconio al producto final. (Septodont)

### Tiempo de Fraguado

El tiempo de fraguado de la Biodentina es el mismo rango que las amalgamas.

Biodentine tiene una consistencia después de mezclado que permite la manipulación con espátula, cargador de amalgama o con cargadores de cementos de endodoncia retrogradados. (Septodont)

### Densidad y Porosidad

La resistencia mecánica de los materiales de silicato de calcio es dependiente del bajo nivel de porosidad. Mientras menos porosidad mayor la fuerza mecánica. Las propiedades mecánicas superiores de la biodentina es determinada por un menor contenido de agua en la etapa de mezcla. (Septodont)

### Fuerza de Compresión

Para el corto tiempo de colocación (9 a 12 min) suficiente resistencia mecánica para poder usarse como sustituto de la dentina, compatible con restauraciones dentales. (Septodont)

### Fuerza Flexural

Los valores internos de la fuerza flexural fueron 22MPa, muy similar a los ionómeros e vidrio (15-39MPa). (Septodont)

### Vickers micro dureza

Dureza puede ser definida como la resistencia a una deformación plástica en la superficie del material después de abolladura o penetración.

Los valores de microdureza reportados para la dentina natural son entre 60-90 HVN (O'Brien 2008). Biodentine tiene un endurecimiento de superficie en el mismo rango que la dentina natural. (Septodont)

## Radiopacidad

Contiene oxido de zirconio que permite la identificación en radiografías.

Comparación con Ionomeros de Vidrio y ProRoot MTA (Septodont)

Product	Lot #	DTS, MPa	Flexural Strength MPa	Modulus GPa	Compressive Strength at 24h(MPa) 0,5 mm/min	Microhardness HVN
Natural Dentine	Dental Materials & their selection (O'Brien 2008)	-	-	18.5	297	60
Biodentine™	193-A-03.11.08 167-B-19.01.09	16. 0(1.2)	24.0 (7.3)	22.0 (2.3)	213,7 (26,1)	60.9 (5.0)
3M Glass Ionomer	349270	27.7 (1.0)	26.6 (4.5)	14.9 (2.1)	124.7 (10.3)	77.8 (4.6)
VOCO Ionofil® Molar AC	915325	16.4 (1.7)	22.5 (2.5)	10.6 (2.9)	129.9 (17.9)	70.3 (3.9)
GC Fuji IX GP Capsule	902101	16.8 (1.3)	22.8 (1.8)	12.8 (2.8)	130.0 (7.0)	76.8 (3.5)
GC Fuji IX GP (hand mix)	0811141/ 0811031	16.5 (0.5)	14.5 (2.4)	15.4 (3.5)	122.6 (10.1)	72.2 (3.7)
GC Fuji II Light Cure Capsule	812111	38.1 (1.8)	39.1 (5.4)	8.1 (0.3)	162.8 (10.1)	45.6 (3.9)
GC Fuji II Light Cure (hand mix)	0902231/ 0812081	32.1 (4.2)	19.3 (6.2)	6.3 (0.4)	183.4 (14.8)	43.3 (4.5)
ProRoot® MTA	08003394/ 08084	9.5 (1.2)	Non measurable	Non measurable	56.1 (7.2)	Non measurable

## Resistencia a Ácidos

Concerniente a la durabilidad de cementos a base de agua en la cavidad oral; uno de las características relevante de los materiales dentales es la resistencia a ambientes ácidos. Es bien conocido que ionomeros de vidrio tienen una tendencia a erosionar bajo esas condiciones.

La erosión a los ácidos y los efectos de saliva en la estructura de Biodentine y composición fue investigado por (Laurent et al., 2008)

Como conclusión la erosión de Biodentine es solución acida es limitada y mas baja que otros cementos a base de agua (ionomeros de vidrio). En saliva reconstituida (contenientes de fosfato) no se observo erosión. En lugar ocurrió una

aposición de cristales en la superficie de la biodentine, con una estructura parecida a apatita.

Este proceso de aposición es debido gracias a un ambiente rico en fosfato, esto es muy alentador en términos de mejora de interface entre Biodentine y la dentina natural. Esta deposición de estructuras apatita puede que incremente el sellado marginal del material.

Este tipo de deposición de cristales es bien conocidos en los sistemas de MTA. (Septodont)

### Citotoxicidad

No hay un efecto directo de citotoxicidad con Biodentina

Se demostró que no hay efecto citotxico directo con Biodentine en una forma de extracto en contacto directo con la línea celular de fibroblastos L929 especializada de células de la pulpa y mas aun no afecta el fenotipo de la expresión de fibroblastos. (Septodont)

Product	Cell death (%)
Biodentine™	0±8
MTA	0±9
CaOH	22±10

*Table 1. Cell death after Dycal®, MTA and BIODENTINE™ contact.*

Product	3 hours	1 day	7 days
Filtek™ Z250	23%	25%	26%
MTA	0%	14%	8%
Biodentine™	2%	10%	9%

*Table 2. Cell death after Filtek™ Z250, MTA and Biodentine™ contact.*



- Genotoxicity

<b>Biodentine™</b>	<b>Micronucleated lymphocytes (%±SD)</b>
1%	4.0±1.1
2.3%	4.0±1.1
3.7%	4.0±1.2
5%	4.2±1.2
- control	3.7±1.2
+ control	16.0±6.0*

*Table 3. Micronucleated lymphocytes after contact with Biodentine™.*

<b>Biodentine™ dilution</b>	<b>Tail DNA mean (%±SD)</b>
0.1%	12.59±0.96
1%	13.31±0.88
10%	14.90±1.06
Undiluted	15.58±1.08
Negative control	13.19±0.96
Positive control	46.52±1.45*

*Table 4. Tail DNA mean after contact with Biodentine™.*

- Pruebas de Irritación Cutánea.

Edema y Eritema fueron evaluados en conejos 1hr, 24hr, 48hr y 72hr luego de la colocación de un parche. Biodentine mostro no ser irritante. <sup>Septodont</sup>

### **(ERRM) Endosequence (Brasseler)**

Es un material biocerámico que contiene partículas mínimas, permite que penetre en túbulos dentinarios y se adhiera a la dentina, no se contrae lo que significa que la reparación no se verá comprometida por la reacción de la colocación.

## Composición.

La pasta esta compuesta de silicato de calcio, oxido zirconio, oxido tantalum, fosfato de Calcio monobasico y agentes de relleno.

Hazardous components:					
Element		CAS #	ACGIH TLV	OSHA PEL	LD <sub>50</sub>
3CaO·SiO <sub>2</sub>	Tricalcium silicate	12168-85-3	10 mg/m <sup>3</sup> total dust	5 mg/m <sup>3</sup> respirable dust 10 mg/m <sup>3</sup> total dust	N/A
2CaO·SiO <sub>2</sub>	Dicalcium silicate	10034-77-2			
ZrO <sub>2</sub>	Zirconium oxide	1314-23-4	5 mg/m <sup>3</sup>	5 mg/m <sup>3</sup> TWA	N/A
Ta <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Tantalum pentoxide	1314-61-0	5 mg/m <sup>3</sup> total dust	5 mg/m <sup>3</sup> total dust	Oral: >4000 mg/kg Rat: 8000 mg/kg
CaSO <sub>4</sub> · 1/2H <sub>2</sub> O	Calcium sulfate (anhydrous)	7778-18-9	10 mg/m <sup>3</sup> (TWA) inhalable fraction	15 mg/m <sup>3</sup> total dust 5 mg/m <sup>3</sup> respirable fraction	No LD <sub>50</sub> /LC <sub>50</sub>

Trace Ingredients: Trace amounts of naturally occurring potentially harmful constituents may be detected during chemical analysis.

## Propiedades Físicas y Químicas.

El estado es en forma de pasta color blanco, no presenta olor y el pH en agua es altamente alcalino 12.

## Biocompatibilidad e Hidrofilicidad

Altamente compatible e hidrofílico. La humedad que naturalmente presenta el conducto radicular y los túbulos dentinarios inicia y completa la función de colocación.

## Incompatibilidades.

Es altamente alcalino. Es incompatible con ácidos, amoníaco, nitratos de amoníaco, sales de amoníaco, metales de aluminio y cloruros. Evitar el contacto intencional con agua para prevenir endurecimiento prematuro ya que el contacto va a resultar en hidratación y produce hidróxido de calcio.

## Altamente radiopaco y Antibacterial

Fácilmente identificable en la colocación del conducto gracias a su gran radiopacidad, además de ser antimicrobiano ya que durante la colocación es muy alcalino.

## Tiempo de trabajo

30 min o más

### Citotoxicidad

ERRM es un material biocerámico. GMTA y WMTA también son considerados biocerámicas.

ERRM mostro viabilidad celular similar a GMTA y WMTA. Durante el fraguado este cemento libera un fluido claro, que se utiliza para que fragüe el material. ERRM tiene propiedades osteoinductivas.

Este estudio muestra que ERRM tiene una citotoxicidad similar a MTA en ambos tanto recién mezclado como fraguado.(Amer et al, 2000)

### Cirugía Apical

Cirugía endodóntica es percibida como difícil, porque el cirujano a menudo se debe aproximar la localización de estructuras anatómicas, tales como vasos sanguíneos grandes, el agujero mentoniano, y el seno maxilar. Aunque las posibilidades de daño a estas estructuras son mínimas, la cirugía endodóntica tradicional no tiene una imagen positiva de la profesión dental debido a su naturaleza invasiva y los resultados dudosos (Kim and Rubinstein, 2001; Kim, 1997)

Si aceptamos la premisa de que el éxito de la cirugía endodóntica depende de la eliminación de todo el tejido necrótico y la completa estanqueidad del sistema de conductos radiculares entero, a continuación, los motivos de fracaso quirúrgico por el enfoque tradicional quedado claro. El examen de los casos no clínicos y extrajeron los dientes por los microscopios de operación quirúrgica revelan que el cirujano era previsible no puede localizar, limpiar y llenar todas las complejas ramificaciones apicales con las técnicas quirúrgicas tradicionales. Estas limitaciones sólo pueden ser superados con el uso del microscopio con magnificación y la iluminación y la especificidad de los instrumentos de microcirugía, sobre todo instrumentos de ultrasonidos. (Estrela et al, 2006).

Las ventajas de la microcirugía incluyen una identificación más fácil de ápices de raíz, osteotomías más pequeñas y menos profundas que conservan los ángulos de la resección del hueso cortical y la longitud de la raíz. Además, una superficie radicular con una gran ampliación e iluminación fácilmente revela detalles anatómicos como istmos, aletas canal, microfracturas, y canales laterales. En combinación con el

microscopio, el instrumento de ultrasonidos permite, coaxial raíz finales preparados-conservador y la raíz final rellenos-precisa que satisfagan los requisitos y biológicos principios mecánicos de la cirugía endodóntica. (Estrela et al, 2006)

Con las técnicas microquirúrgicas, el tamaño de la osteotomía es significativamente menor, sólo 3 a 4 mm de diámetro. Esto es sólo más grande que una punta ultrasónica de 3 mm de longitud, sin embargo, permite que la punta para que vibre libremente en la cavidad del hueso. (Estrela et al, 2006).

No hay justificación biológica para un ángulo de inclinación pronunciada. Era estrictamente para conveniencia de los cirujanos para la identificación del ápice y de la preparación apical posterior (Kim and Rubinstein, 2001)

De hecho, biselado causa un daño significativo a las estructuras del tejido mismo de que la cirugía está diseñada para ahorrar, es decir, hueso vestibular y la raíz. Mediante resección en diagonal, el resultado de biselado empinadas, el hueso bucal se retira junto con una amplia zona de la raíz que causa, en efecto, una osteotomía de gran tamaño. Por otra parte, biselado con frecuencia se pierde la posición del ápice lingual, causa el alargamiento del canal y la reducción del diámetro de la raíz, debilitando (Estela et al 2006)

### Resección Radicular

¿Cuánto debería ser resecado?

No hay acuerdo total en cuanto a cuánto de la raíz debe ser resecado para satisfacer los principios biológicos. Gilheany et al. sugiere que al menos 2 mm de retirarse para minimizar las fugas bacteriana de los canales. Nuestro estudio de la anatomía del ápice radicular se observa que al menos 3 mm de la raíz-fin debe ser eliminado para reducir el 98% de las ramificaciones apicales y el 93% de los canales laterales. (Gilheany et al., 1994 ; Kim S et al; 2001)

A medida que estos porcentajes son muy similares a 4 mm del ápice, se recomienda-fin a la amputación de raíz de 3 mm, ya que esto deja una media de 7 a 9 mm de la raíz, que proporciona fuerza y estabilidad suficientes. A fin de amputación raíz de menos de 3 mm lo hace, probablemente no, quite todos los conductos laterales y ramificaciones apicales, por lo tanto, en que el riesgo de reinfección y la eventual falla. (Estela et al, 2006)

Material de Sellado Apical

Es el MTA el mejor material?

Una preparación ultrasónica de 3mm debe estar ocupada con un material que tenga un sellado hermético.

### **Enterococcus faecalis**

Es un organismo predominante que desempeña un papel importante en la etiología de las lesiones perirradiculares persistentes después de un tratamiento de canal (Gilheany et al 1994; Rôças et al,2004.)

Los estudios que investigan su presencia en los dientes obturados con lesiones perirradiculares han demostrado una prevalencia que van desde 24% a 77% (Pinheiro et al, 2003).

La resistencia antimicrobiana intrínseca y la capacidad de adaptarse a los cambios en el medio ambiente ayuda *E. faecalis* a persistir en el conducto radicular. (Stuart et al, 2006)

*E. faecalis* pueden adherirse a las paredes del conducto radicular, se acumulan, y las comunidades organizadas en forma de biofilm, que le ayuda a resistir la destrucción al permitir que las bacterias a los 1.000 veces más resistentes a la fagocitosis, los anticuerpos, y los antimicrobianos de biofilm-producción de los organismos-no (Pinheiro et al, 2003).

*In vitro*, los estudios han demostrado una capacidad de formación de biofilm similares de *E. faecalis* cepas aisladas de la cavidad oral y los conductos radiculares y la capacidad de *E. faecalis* biofilm a calcificarse, ya que sufre "maduración" en el canal de la raíz. (Liu et al, 2010; Duggan and Sedgley, 2007.)

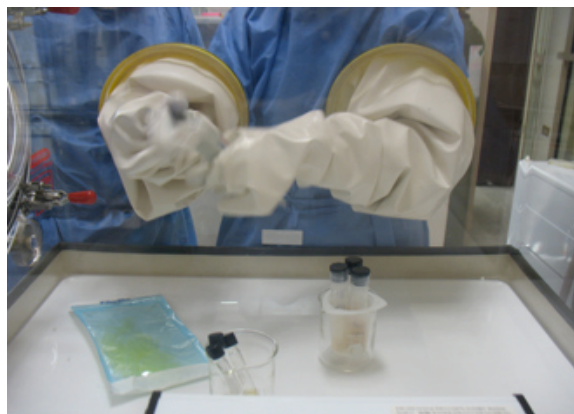
## MATERIALES Y METODOS

### Activación de las Cepas

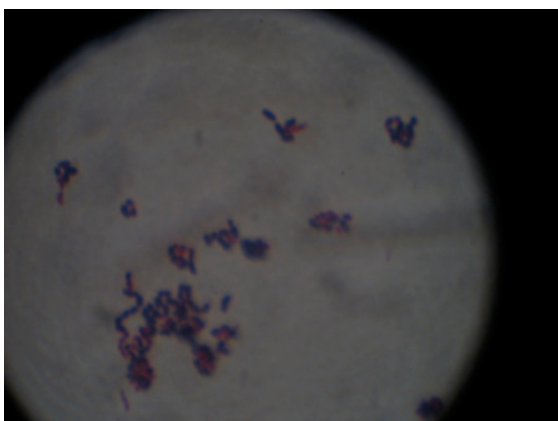
Dentro de la cámara de anaerobiosis se tomaron 100µl de *E. faecalis* con una micro pipeta Eppendorf, y se inocularon en tubos Eppendorf con tripticaseína de soya en forma individual, los tubos se colocaron en la incubadora Shell Lab a 37°C durante 7 días para activarlas. Al término de éste tiempo se tomaron 100µl de cada tubo inoculado y se sembró su contenido en cajas de agar sangre de carnero al 5% también en forma individual, se sellaron con cinta testigo y se colocaron todas las cajas en una bolsa hermética. Se colocaron por 7 días más a la incubadora, transcurrido éste tiempo se les realizó coloración de Gram a la bacteria para observar su morfología por medio de un Microscopio óptico a 100X y se comprobó la viabilidad de la cepa bacteriana.



**Fig. 1.** Colocación Caldo tripticaseína de soya



**Fig. 2.** Inoculación en cámara de anaerobiosis



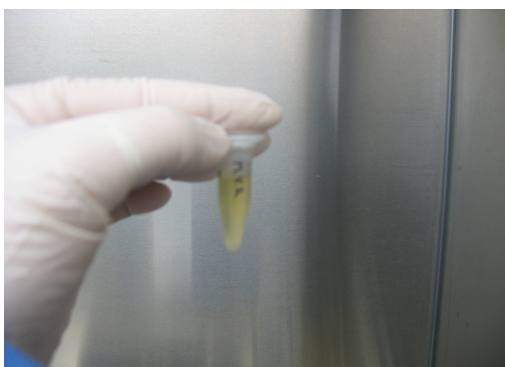
**Fig. 3** Coloración de Gram *E. faecalis*  
Sangre



**Fig. 4** Inoculación *E. faecalis* en placas de Agar

## Elaboración de la mezcla bacteriana

Al confirmar el óptimo crecimiento de la bacteria se tomaron 1000µl de cada tubo que contenía *E. faecalis* reactivado y se colocaron en un solo tubo de ensayo que contenía previamente 5000µl de caldo de tripticaseína de soya para realizar la mezcla con la bacteria, obteniendo un volumen total de 10,000µl.



**Fig. 5** Crecimiento *E. faecalis* en tubo eppendorf con caldo de tripticaseína de soya



**Fig. 6** Agregación bacteriana en tubo Eppendorf

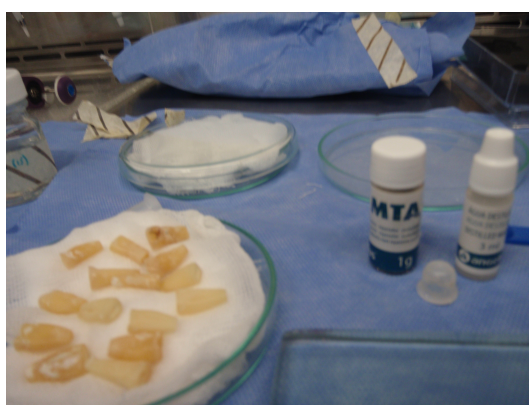


## Preparación de los órganos dentarios

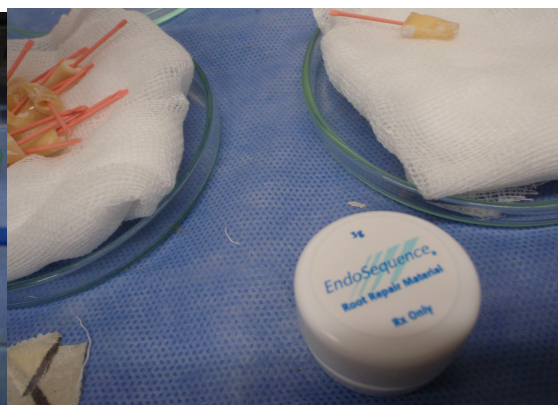
### Tamaño de Muestra

Se seleccionaron un total de 42 piezas uniradiculares humanas extraídas y 4 dientes más se utilizarán como grupo control, dando un total de 46 dientes uniradiculares los cuales se mantuvieron en solución salina hasta la realización del procedimiento para mantenerlos húmedos, a estos se les seccionó la corona para estandarizar las raíces a 16mm y se tomó la longitud de trabajo con una lima #15 tipo K Maillefer restando un milímetro a partir de su salida al ras del foramen apical.

Luego se dividieron aleatoriamente en 3 grupos dando un total de 14 dientes por grupo y 4 controles dividiéndose en 2 positivos y 2 negativos.



**Fig. 7** Grupo de dientes de MTA



**Fig. 8** Grupo de dientes BCC RRM putty



**Fig. 9** Grupo de dientes Biodentine



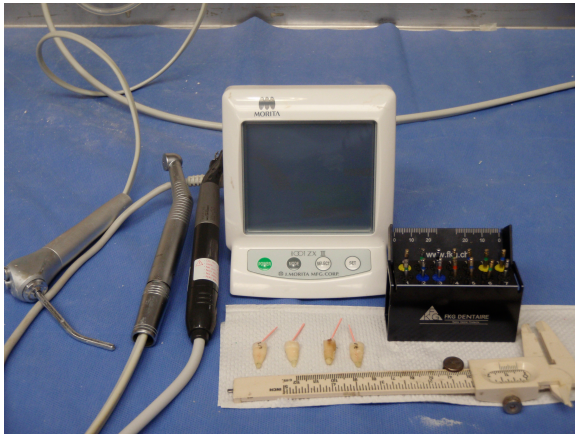
**Fig. 10** Grupos de todos los cementos y control



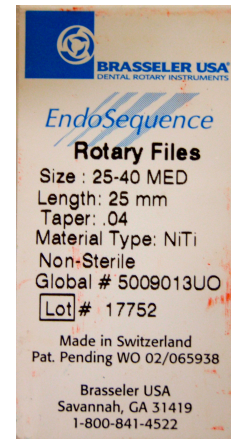
### Procedimiento Endodóntico.

La instrumentación de los especímenes se llevó a cabo con la técnica Crown Down con instrumental rotatorio utilizando el motor Root ZX II (Morita) hasta un diámetro apical #40(0.4) con limas EndoSequence y se realizó la irrigación con Hipoclorito de Sodio al 5.25% al término del uso de cada instrumento para mantener permeable el conducto, se secaron los conductos con puntas de papel #40 Hygenic y se llenaron los mismos con EDTA al 17% por cinco minutos y se seco el conducto nuevamente con puntas de papel # 40 Hygenic.

Se colocó una punta de gutapercha 6mm corto del ápice para crear nuestro tope y se checó clínica y radiográficamente.



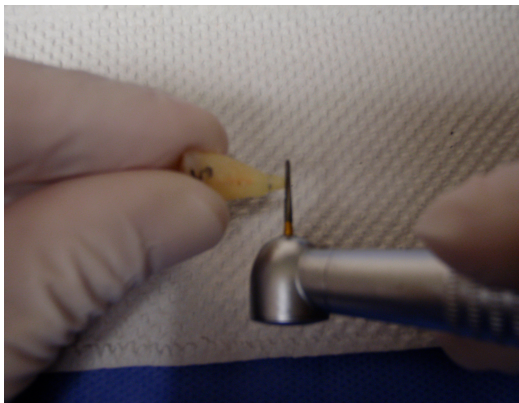
**Fig. 11** Motor rotatorio Root ZX II para la preparación endodóntica de los dientes con limas rotatorias de Endosequence de Brassler



**Fig.12** Limas Endosequence Med

### **Procedimiento Quirúrgico:**

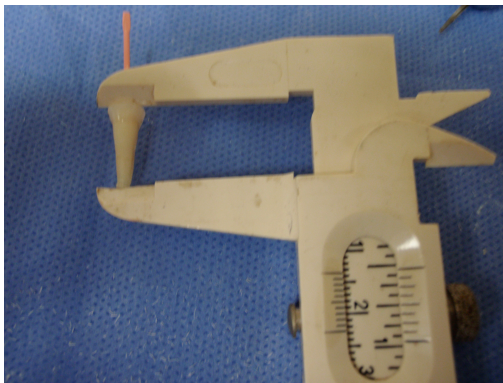
Una vez realizado el procedimiento endodóntico se llevó a cabo la cirugía apical la cual constó de cortar los 3 últimos mm apicales con una fresa zekrya con pieza de alta velocidad (Kavo) bajo spray de agua. Al retirar los 3 mm apicales se prepararon 3 mm hacia coronal con puntas de ultrasonido Kiss 1D (Spartan) y ultrasonido (P5 Booster, Satelec) esto creó el espacio de 3mm para la colocación del cemento. Se comprobó que la punta de gutapercha colocada 6 mm corto ahora diera un espacio de 3mm para la estandarización de grosor de cada cemento.



**Fig. 13** Corte de ápice con fresa zekrya



**Fig. 14** 3mm apicales



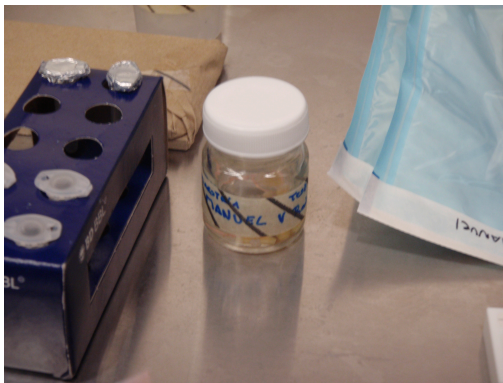
**Fig. 15** Medición del diente para la estandarización

### **Esterilización de los órganos dentarios**

Al término del proceso de cirugía apical, los órganos dentarios se colocaron aleatoriamente en 4 envases de vidrio 3 para cada grupo de cemento y 1 para los controles y se esterilizaron en autoclave durante 30 minutos a 121° y 15 libras de presión.

Se comprobó la esterilidad tomando una muestra de los especímenes con una punta de papel #40 Hygenic estéril y se colocó en un tubo Ependorf con caldo de tripticaseína de soya estéril y se incubó durante 24 horas, al término de este tiempo se observó si había presencia de turbidez, lo cual nos indicará que hay bacterias y tendría que ser comprobada mediante un sembrado de éste caldo en cajas de agar sangre de carnero al 5% incubándolas durante 24 horas.

No presentaron turbidez por lo cual no fue necesario realizar el sembrado y se continuo el procedimiento.



**Fig. 16** Recipiente de vidrio con agua y un grupo de dientes



**Fig. 17** Todos los recipientes para cada grupo

### Preparación de Columnas de Eppendorf

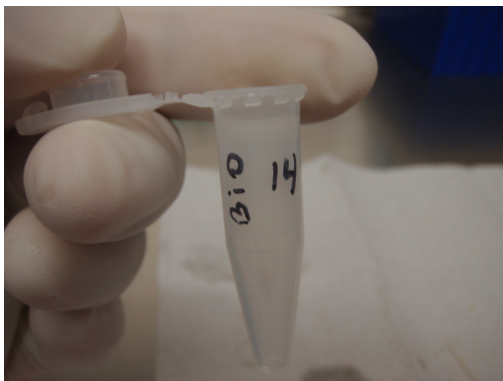
Se utilizaron 92 tubos de Eppendorf para la realización de 46 columnas en las cuales se le cortó la punta a la mitad de los tubos ( $n=46$ ) y se fijaron a presión uno con otro.



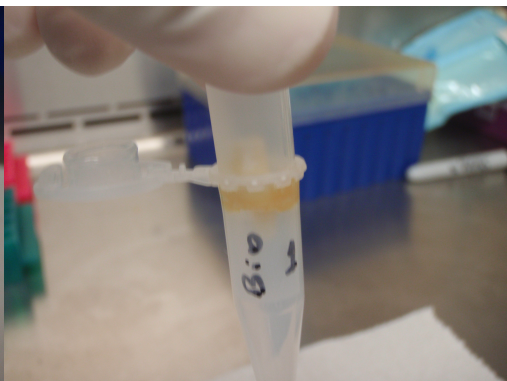
**Fig. 18** Eppendorf superior



**Fig. 19** Cementado diente al Eppendorf



**Fig. 20** Eppendorf inferior



**Fig. 21** Columna preparada con diente



## Colocación de los Cementos

Se asignaron los 42 dientes ya estériles en 3 grupos aleatoriamente (n=14) uno para el MTA, BCC RRM Putty Endosequence y Biodentine y 4 dientes mas se utilizaron para los controles, 2 positivos y 2 negativos.

Se mezclaron y colocaron los cementos tal y como lo dice el fabricante, se colocaron por apical con una espátula de cemento y se compactó hacia coronal con un condensador vertical de Schilder 5/7 hacia la gutapercha probada anteriormente como tope coronal para los 3 mm de cemento de cada grupo escogido. Una vez colocado el cemento se dejaron los especímenes con el cemento en una cama de gasas estériles húmedas con agua estéril en una placa de Petri con el fin de mantenerlos húmedos y se llevaron a la incubadora a 37°C por 4 hrs. para dejarlos fraguar correctamente; con excepción de la Biodentine que fragua en 12 minutos con o sin presencia de humedad.



**Fig. 22** Grupo MTA con gutapercha 3mm corto para la colocación de cemento



**Fig. 23** Cemento RMM en ápice



**Fig. 24** Grupo Biodentine



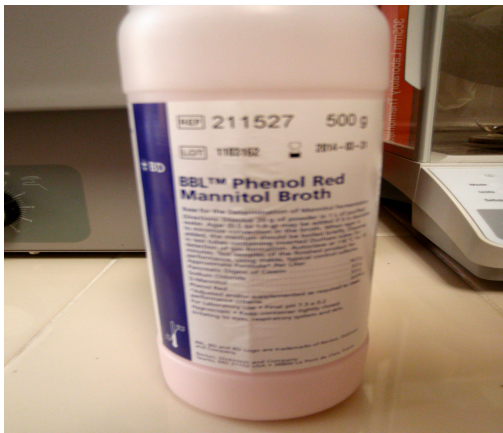
**Fig. 25** Colocación de dientes con cemento en gasas húmedas

## Preparación del Caldo de Manitol Rojo Fenol

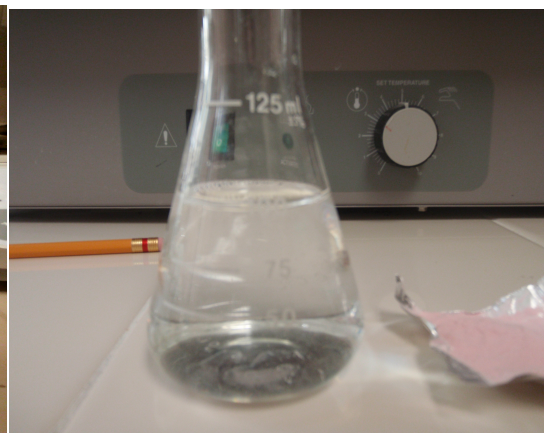
Base para determinar la fermentación del manitol.

Se disuelve 20g del polvo en 1L de agua purificada. Se mezcla hasta que quede el color rojo. Se esterilizo en autoclave de 118 C durante 15 minutos.

Se colocó 1.5 ml del caldo ya preparado en el tubo eppendorf inferior en donde quedaba el ápice del diente embebido dentro del caldo de manitol rojo fenol. El caldo se cambiaba cada semana en tubos nuevos estériles para mantenerlo fresco.



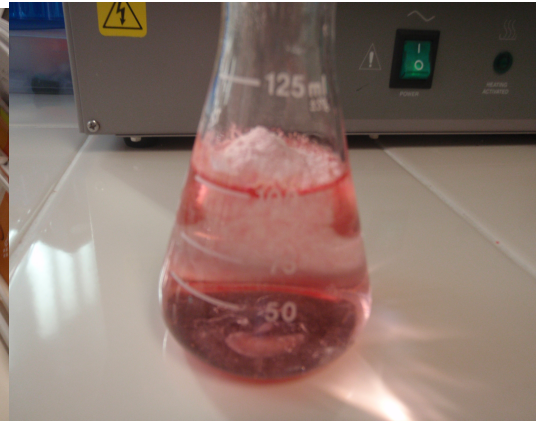
**Fig. 26** Manitol Rojo Fenol



**Fig. 27** Agua bidestilada



**Fig. 28** Pesado en gramos



**Fig. 29** Mezcla caldo manitol con rojo fenol

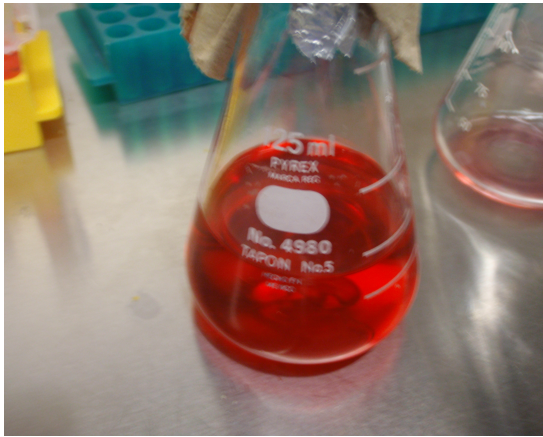


**Fig. 30** Colocación para esterilización

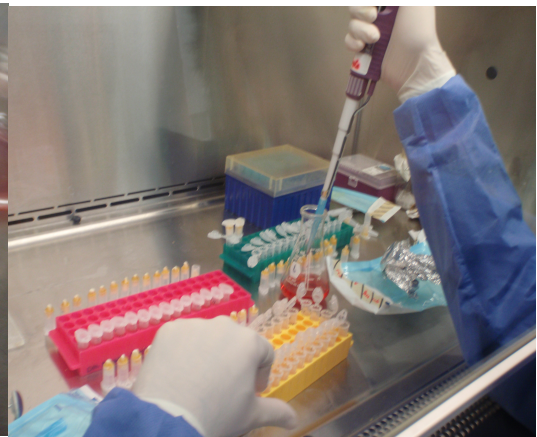


**Fig. 31** Autoclave

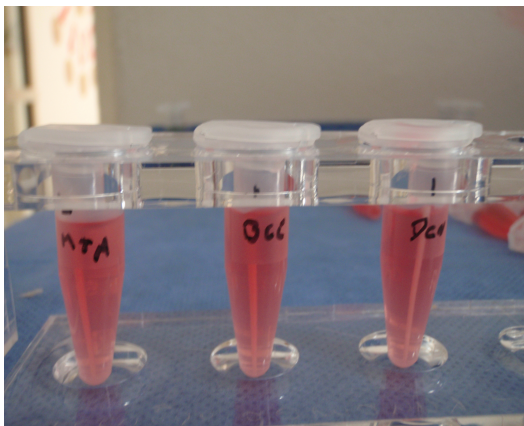




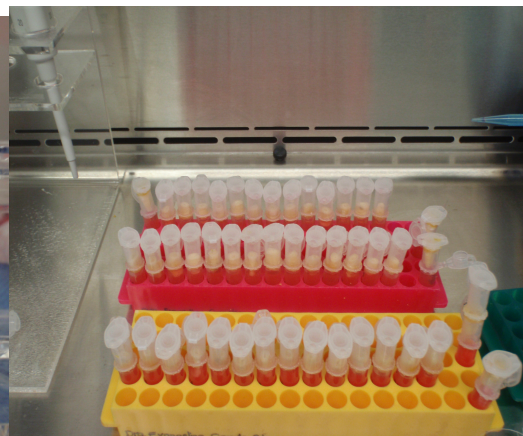
**Fig. 32** Caldo manitol rojo fenol estéril



**Fig. 33** Colocación caldo en eppendorf inferior



**Fig. 34** Prueba de esterilidad



**Fig. 35** Preparación de las columnas con los dientes



**Fig. 36** Vaciado de Eppendorf semanal

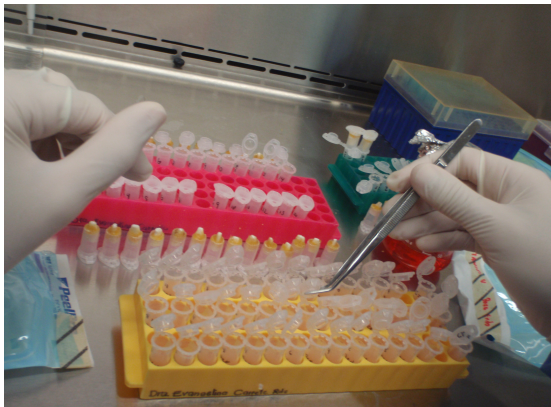


**Fig. 37** Colocación eppendorf con caldo fresco estéril semanalmente

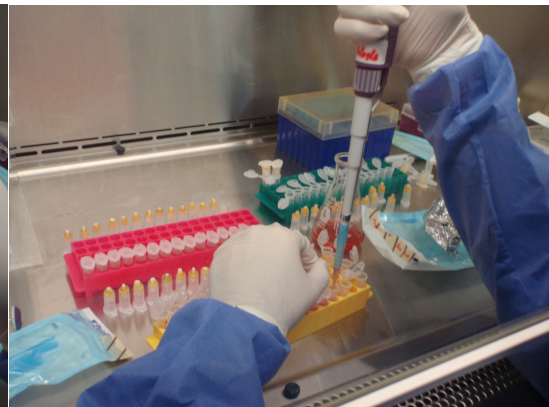
### Inoculación de los especímenes y colocación de soluciones

Ya comprobada la esterilización de los especímenes dentarios y cultivada la bacterias se colocaron los dientes en las columnas de tubos de ependorf estériles en las cuales se fijó el diente en la superior con cianocrilato a los lados de la raíz para separar la parte apical de la coronal y así la parte apical con el cemento se puso en contacto con el colorante y la parte coronal y solo dentro del conducto se colocaron 10 microL del caldo de tripticaseína con el *E. faecalis* para evitar contacto con el cianocrilato y evitar filtración a través de este.

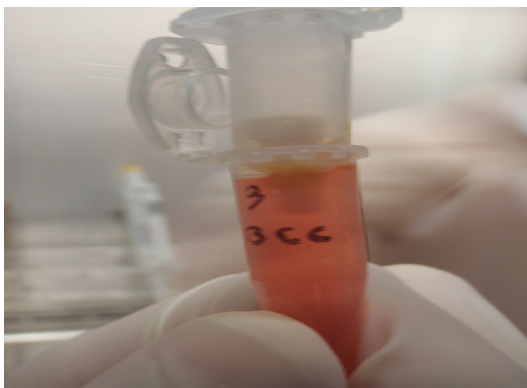
Luego 10 µl de las bacterias fueron re-inoculadas en el tubo de ependorf superior solo en el conducto cada 5 días para mantener la viabilidad, concentración y patogenicidad al igual que se cambiaron cada 5 días el tubo de ependorf inferior con colorante rojo fenol.



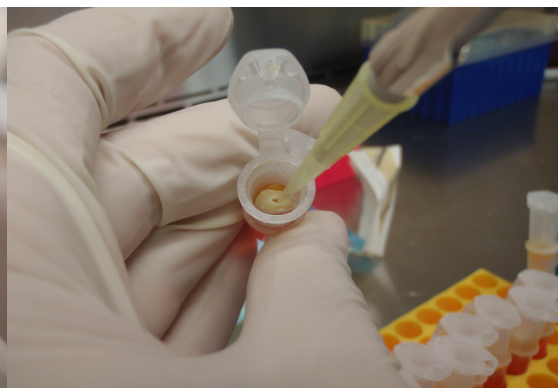
**Fig. 38** Preparación dientes para inoculación



**Fig. 39** Colocación rojo fenol Eppendorf inferior



**Fig. 40** Columna preparada



**Fig. 41** Inoculación *E. faecalis* dentro del conducto

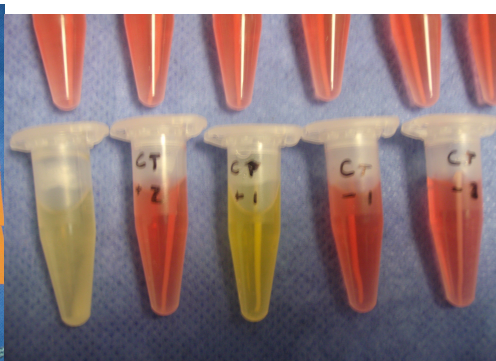


### Toma de muestra

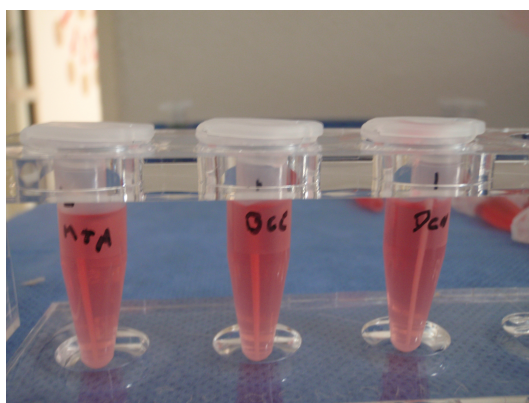
Durante el procedimiento todos los especímenes fueron evaluados cada 7 días y al final de los 40 días se procedió a tomar con una punta de papel estéril # 60 Hygienic cada una de las muestras que presentaron cambios de coloración, en la cual se introdujo cada punta en un tubo Eppendorf contaminado y se reinoculó en una placa de Petri de caldo de tripticaseína de soya estéril, se dividió la placa de Agar caldo tripticaseína en 4 partes iguales y se colocaron las puntas de papel contaminada en un espacio y se dejaron por 7 días a 37°C, para comprobar crecimiento bacteriano de *E. Faecalis* y que efectivamente fue esa bacteria la que filtro y no hubo contaminación externa.



**Fig. 42** Separación en grupos



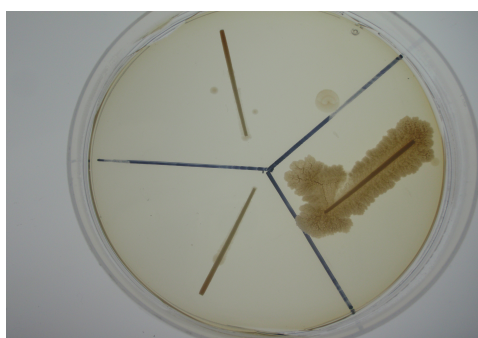
**Fig. 43** Cambio de Color por contaminación



**Fig. 44** Prueba de esterilidad semanal



**Fig. 45** Separación especímenes contaminados

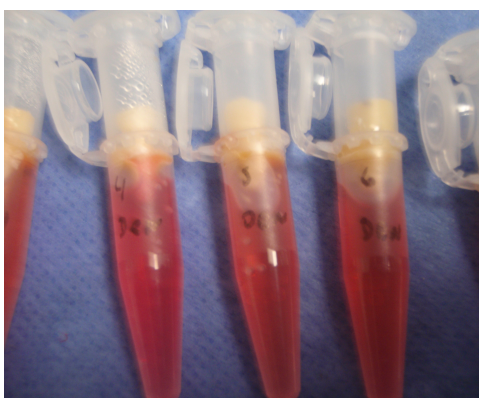


**Fig. 46.** Colocación punta de papel contaminada en agar tripticaseína de soya

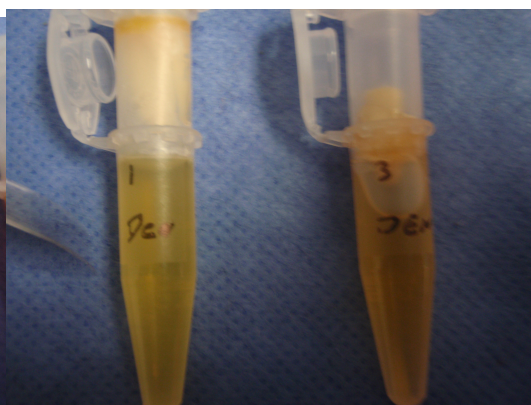
## Determinación de resultados

Se realizó visualizando el cambio de coloración en el tubo de eppendorf y se revisó nuevamente en placa de Petri para los que presentaron cambio de coloración de rojo a amarillo.

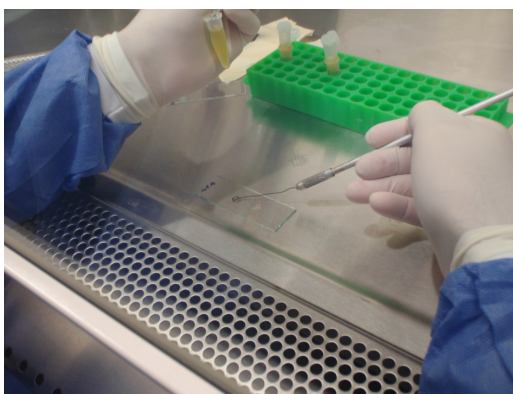
Los tubos en los cuales hubo filtración se evaluaron con una prueba de coloración de Gram, para asegurarnos de que la filtración había ocurrido a causa del E. Faecalis y no por contaminación externa.



**Fig. 47** Muestras no filtradas



**Fig. 48** Muestras con filtración



**Fig. 49** Toma de muestra contaminada con asa estéril



**Fig. 50** Líquidos para coloración de Gram

### Reacción en Cadena de la taq polimerasa (PCR)

De los crecimientos bacterianos resultantes, se tomó una asada de la colonia y se resuspenderá en 100µl de H<sub>2</sub>O mili Q estéril. Las muestras fueron colocadas 10 minutos en baño de agua hirviendo. Esto se pasó a centrifugación en centrifuga eppendorf Mini Spin plus a 10,000 rpm durante 30 segundos y se tomaron 7µl del sobrenadante como fuente de ADN. Las muestras se mezclaron con los diversos componentes de reacción bajo el siguiente esquema:

<b>d’Ntp’s</b>	1.5
<b>Buffer</b>	2.5
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	1.0
<b>Primer 1</b>	2.0
<b>Primer 2</b>	2.0
<b>H<sub>2</sub>O mili Q</b>	3.5
<b>ADN</b>	7.0
<b>taq Polimerasa</b>	0.5
<b>Total</b>	20.00µl

Todos los reactivos anteriores pertenecerán al kit de BIOLASE™ TAQ Core Kit de BIOLANE.

La mezcla se colocó en el Termociclador Perkin-Elmer modelo 2400 con las siguientes condiciones: 94°C/5 minutos para desnaturalizar el ADN. Posteriormente se dieron 30 ciclos de 94°C/1 minuto (desnaturalización); 36°C/1 minuto (alineamiento) y 70°C/1 minuto (polimerización). Al final, un ciclo de minutos a 73°C para completar la polimerización.

Obteniendo el producto final (20µl), se mezcló 5µl de la muestra de PCR, 2 µl de Syber Green y 2µl de GoTaq™; se cargaron los pozos de los geles horizontales de agarosa al 1% en buffer TAE (Tris.Ácido Acético-EDTA, pH 8.0) en una cámara de electroforesis BIO-RAD por 40 minutos con una carga de 100 Voltios de una fuente



de poder BIO-RAD. Al término de éste periodo se le agregó a cada gel bromuro de etidio para facilitar la visualización de las bandas de ADN en los geles en una lámpara de luz ultravioleta BIO-RAD UV Transiluminator 2000.



Fig. 51 Preparación gel de Agarosa



Fig. 52 Gel de Agarosa

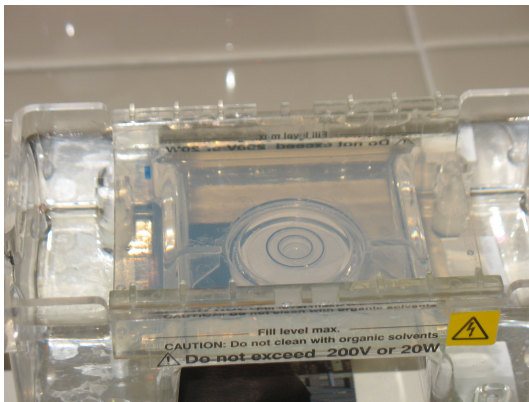


Fig. 53 Cámara de electroforesis BioRad

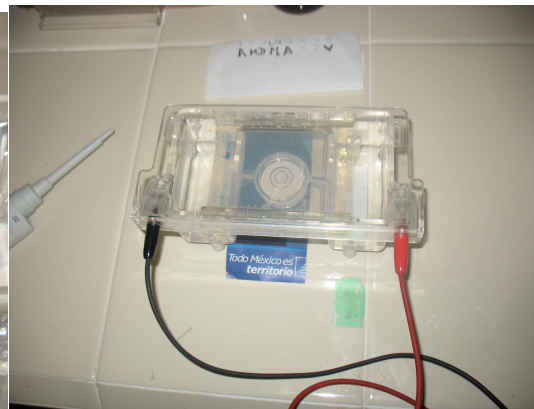


Fig. 54 Electrodos en cámara de electroforesis



Fig. 55. PCR. *E. faecalis*

## RESULTADOS

Para el análisis estadístico:

I) Se utilizó la estadística descriptiva: medidas de tendencia central y dispersión: rango, media, mediana, moda, desviación estándar, proporciones o porcentajes para evaluar los días en cado de filtración para cada uno de los cementos.

II) Por tener dos o más muestras, se utilizará **estadística inferencial**.

Para los parámetros principales:

Prueba de chi cuadrada con 95% de confiabilidad para verificar si existe relación entre el tipo de cemento empleado y la presencia de filtración.

Prueba de chi cuadrada con 95% de confiabilidad para verificar si existe relación entre el tipo de cemento empleado y el rango de días presentado en caso de filtración.

III) Variables cuantitativas: **Anova** con 95% de confiabilidad para evaluar la presencia de diferencia significativa entre las varianzas, en su caso, de los días filtración de las piezas

IV) **Prueba t de diferencia de medias** con 95% de confiabilidad; si la ANOVA demuestra diferencias significativas. El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) fue de  $p < 0.05$ .

Tabla 1

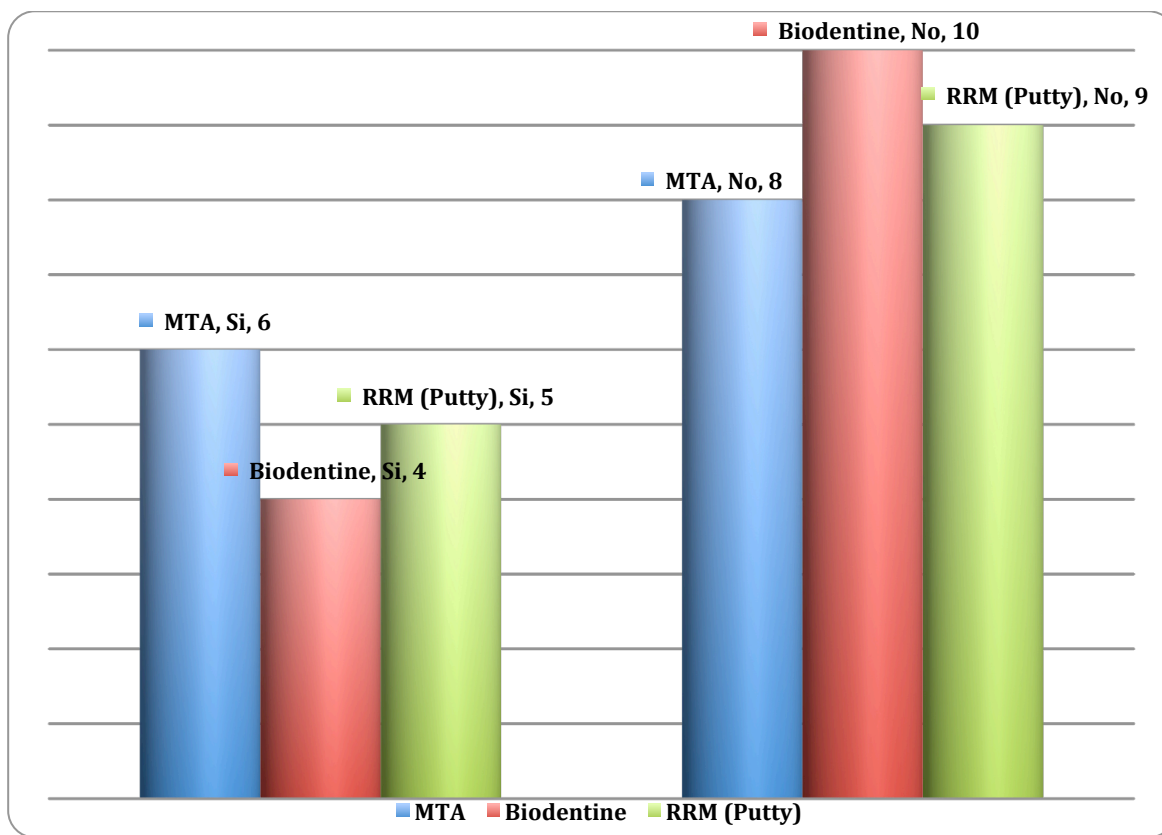
### Filtración de las piezas según el cemento empleado, Diciembre de 2011

	Si		No		Total		IC: $1-\alpha=0.95$	
Cemento	n	%	n	%	n	%	LI	LS
MTA	6	42,85	8	57,14	14	33,33	15,2	64,79
Biodentine	4	28,57	10	71,42	14	33,33	4,29	49,04
RRM (Putty)	5	35,71	9	64,28	14	33,33	9,47	57,18
Total	15	35,71	27	64,28	42	100		

P=0.73

**Gráfico 1**

**Filtración de las piezas según el cemento empleado, Diciembre de 2011**



En la gráfica podemos apreciar la cantidad de piezas que filtraron *E. faecalis*, dando como resultado que el MTA fue el que filtro mas. 6 de 14 dientes dando un porcentaje del 42.85% en segundo lugar el BCC RRM putty con 5 de 14 dientes dando un porcentaje del 35,71% y por último la Biodentina con 4 de 14 dientes dando un porcentaje del 28.57%.

De un total de 42 dientes divididos en 3 grupos (n=14). En conjunto hubo un promedio de filtración de todos los cementos del 35,71% un total de 15 dientes y un 64.28% no tuvieron filtración un total de 27 dientes

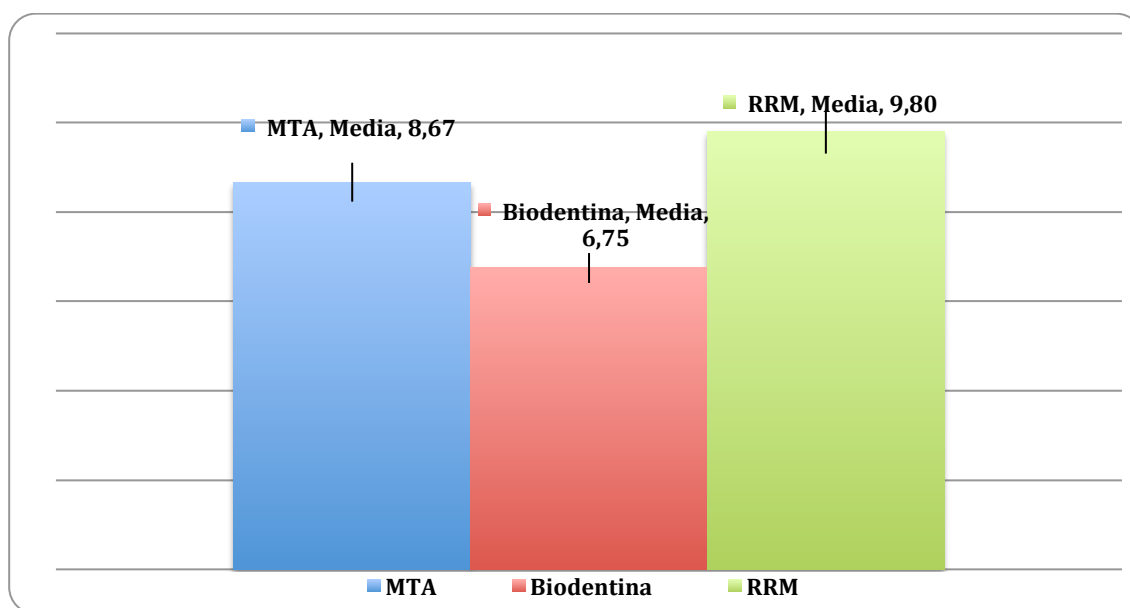
Tabla 2

**Días de Filtración de las piezas según el cemento empleado,  
Diciembre de 2011**

	n	Media	Mediana	Moda	Desviación estándar	Varianza	Rango	Mínimo	Máximo	IC <sub>1-<math>\alpha</math></sub> =0.95	
MTA	6	8,67	7,5	4	5,72	32,67	14	4	18	2,67	14,66
Biodentina	4	6,75	7	9	2,63	6,92	5	4	9	2,57	10,93
RRM	5	9,80	11	11	3,27	10,70	8	4	12	5,74	13,86

**Grafico 2**

**Días de Filtración de las piezas según el cemento empleado, Diciembre de 2011**



En esta grafica #2 queda reflejado los días en los cuales ocurrieron las filtraciones, dando como resultado para el MTA que en un periodo de 30 días, filtro el primer diente a los 4 días y el ultimo a los 18 días dando un promedio de filtración a los 8,67 días. Para la Biodentina su primer día de filtración ocurrió a los 4 días y el ultimo a los 9 días dando un promedio de filtración a los 6.76 días. Para el RRM putty su

primer día de filtración ocurrió a los 4 días y el ultimo a los 12 días dando un promedio de filtración a los 9.80 días.

Tabla 3

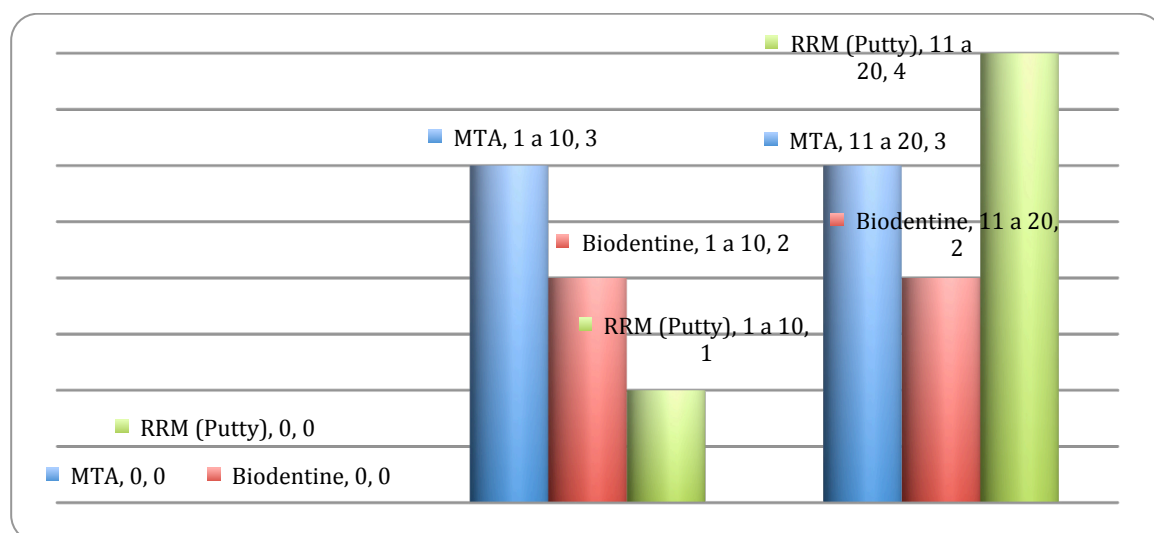
**Rango de días de Filtración según el cemento empleado, Diciembre 2011**

	0		1 a 10		11 a 20		Total	
Cemento	n	%	n	%	n	%	n	%
MTA	0	0,00	3	50,00	3	50,00	6	100,00
Biodentine	0	0,00	2	50,00	2	50,00	4	100,00
RRM (Putty)	0	0,00	1	20,00	4	80,00	5	33,33
Total	0	0	6	40,00	9	60,00	15	100

P=0.53

Grafico 3

**Rango de días de Filtración según el cemento empleado, Diciembre de 2011**



En la siguiente grafica #3 se evaluó el rango de días en los que ocurrió la filtración, los cuales presenta como resultado para el MTA que 3 dientes filtraron de 1 al 10 días y 3 del días 11 al 20, ninguno filtro del día 20 al 30. Para la Biodentina 2 dientes filtraron entre el días 1 al 10 y 2 del día 11 al 20, ninguno filtro del día 20 al 30. Para el RRM (putty) 1 diente filtro del día 1 al 10 y 4 del 11 al 20, ninguno filtro del día 20 al 30.



Tabla 4

Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk,

Días de filtración según cemento,

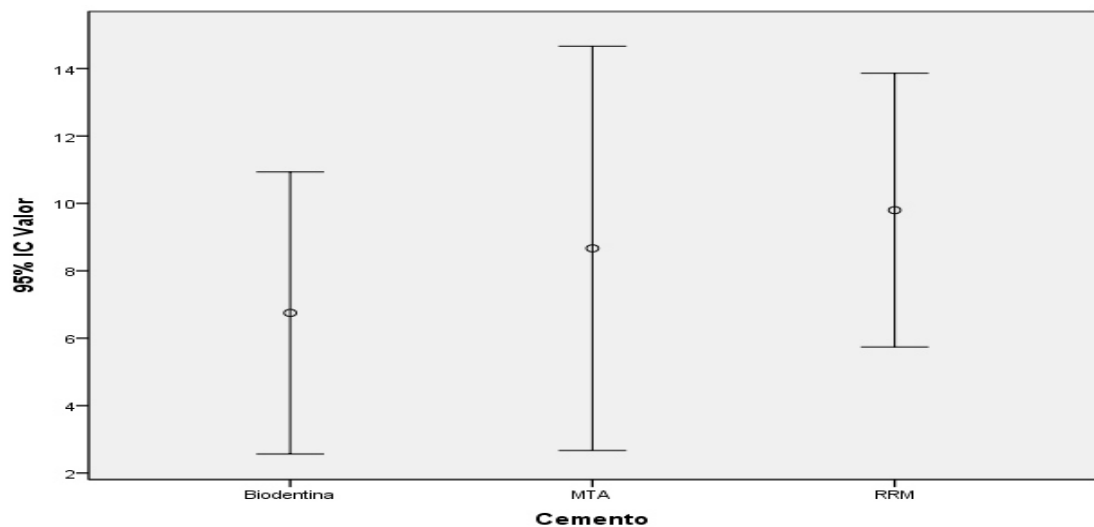
Diciembre de 2011

Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.
Biodentine	,811	4	,123
MTA	,822	6	,091
RRM	,661	5	,004

Gráfico 4

Homogenidad del intervalo de confianza (95% de confiabilidad

Según el tipo de cemento empleado, diciembre de 2011



### Análisis de datos

Posterior a la verificación de la normalidad y homogeneidad de las variables se procedió a realizar un análisis de varianza para probar la magnitud de las diversas fuentes de variación y determina su asociación a la fuente de variación total.

### Descripción de los datos

Variable dependiente: Días de filtración

Variable independiente: Cemento

MTA	Biodentina	RRM
4	4	4
4	5	11
4	9	11
11	9	11
11		12
18		

### Planteamiento de las hipótesis

$$H_0: \sigma^2_{MTA} = \sigma^2_{Biodentina} = \sigma^2_{RRM}$$

$$H_1: \sigma^2_{MTA} \neq \sigma^2_{Biodentina} \neq \sigma^2_{RRM}$$

### Estadística de prueba

$$RV = \frac{CM_{Entre}}{CM_{Dentro}}$$

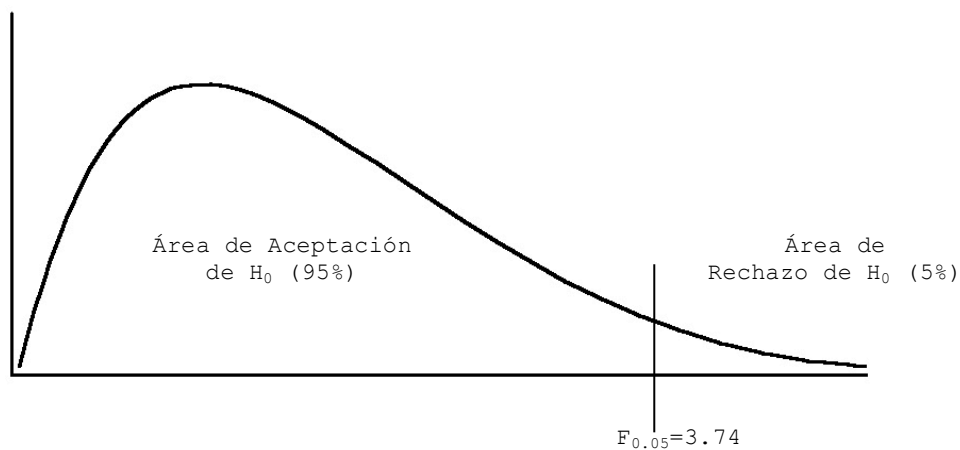
donde:

$CM_{entre}$ : Cuadrado medio entre los grupos

$CM_{dentro}$ : Cuadrado medio dentro de los grupos

### Distribución o presentación de la prueba

$$F_{1-\alpha=0.95}(2,14) = 3.74$$



### Criterio de decisión

Se acepta hipótesis nula si el valor de RV es menor a 3.74, se rechaza hipótesis nula si el valor de RV es igual o mayor a 3.74

### Estadística de prueba calculada

Tabla 5

Análisis de varianza

Días de filtración, Diciembre de 2011

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	20,850	2	10,425	,551	,590
Intra-grupos	226,883	12	18,907		
Total	247,733	14			

Tabla 6

Prueba HSD de Tukey

Días de filtración, Diciembre de 2011

Cemento		Diferencia de medias	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
MTA	Biodentina	1,917	,778	-5,571	9,405
	RRM	-1,133	,904	-8,158	5,891
Biodentina	MTA	-1,917	,778	-9,405	5,571
	RRM	-3,050	,564	-10,832	4,732
RRM	MTA	1,133	,904	-5,891	8,158
	Biodentina	3,050	,564	-4,732	10,832

Se rechaza hipótesis nula por lo tanto se asegura con un 95% de confiabilidad que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas de los 3 grupos de estudio.

## DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fué determinar si el *E. faecalis*, filtraba a través de tres cementos similares en composición a base de silicato tricalcico como lo son el MTA (Angelus), Biodentine (Septodont) y BCC RRM putty (Brassler). Estos materiales han mostrado un buen sellado apical, baja citotoxicidad y baja solubilidad. Se utilizo la metodología descrita por (Barthel et al. 2000) con ciertas modificaciones.

El MTA fue escogido ya que es el mas comúnmente utilizado, ha sido recomendado para recubrimiento pulpar, pulpotomía, formación de la barrera apical en dientes con ápices abiertos, reparación de perforaciones radiculares, y la obturación del conducto radicular. Se ha reportado que el MTA tiene efecto antimicrobial limitado contra ciertos microorganismos. WMTA inhibe el crecimiento bacteriano y mezclado con CHX mostro significativamente más efecto antimicrobial que con agua, estos resultados coinciden con los reportados en este estudio ya que el cemento en el que mas muestran filtraron fue el MTA. Especies de bacterias, *E. faecalis* requiere una mayor concentración de MTA para la inhibición del crecimiento. Sin embargo, una investigación reciente informó similares propiedades anti-bacterianas para ambos tipos de WMTA y GMTA. (Estrela C et al., 2006)

En una revisión realizada por (Torabinejad et al.1996) de filtración bacteriana comparando el MTA con la amalgama, resulto que el MTA es mas resistente a la microfiltración bacteriana y que el MTA previene mejor la filtración bacteriana que el Super EBA y el IRM. Estos resultados difieren del estudio realizado ya que los cementos utilizados en este estudio no eran a base de biosilicatos como lo fue en nuestro estudio, defiriendo en que el MTA no es el que previene mejor la filtración bacteriana.

La Biodentine es un nuevo material que puede conciliar altas propiedades mecánicas con excelente biocompatibilidad, como también un comportamiento bioactivo. Es basado en una formulación de Calcio-silicato la cual es adecuado como un material de reemplazo para la dentina en cualquier situación en la que esta este dañada. (Septodont)

El BCC RRM putty es un material biocerámico que contiene partículas mínimas, permite que penetre en túbulos dentinarios y se adhiera a la dentina, no se contrae lo que significa que la reparación no se verá comprometida por la reacción de la colocación menciona Lovato que ha sido fabricado por endosequence para superar algunas de las dificultades de manejo del MTA. También comentan que el RRM putty a diferencia del MTA es manufacturado para que sea moldeable. Una dificultad encontrada durante el procedimiento fue el completo fraguado del cemento RRM. Brassler comenta que la humedad de los túbulos dentinarios es la adecuado para dejar que el material fraguara. En estudios pilotos se observó que el material solo fraguaba solo cuando estaba completamente cubierto por agua. (Karen F. Lovato et al 2010)

En otro estudio reportaron una incapacidad de soportar una carga a 37% y 100% de humedad hasta las 168hrs. Otros estudios reportaron que requería de 108hrs (4.5 días) mezclado con agua para iniciar el fraguado inicial y el fraguado final a 168hrs (7 días). (Damas et al., 2010).

En el presente estudio se observó que en presencia de excesiva humedad no fraguaba completamente solo con la humedad de la gasa con agua estéril en contacto con el cemento, fue que pudo fraguar completamente en 30 min. Difiriendo del estudio por Damas. (Damas et al., 2010)

En un estudio de filtración bacteriana del MTA con *Staphylococcus epidermis* realizado por (Torabinejad et al., 1994). Resultó en que 2 de 10 muestras del mineral trióxido agregado tuvieron filtración mientras que Fisher y col., 1994 tuvieron filtración en 8 de 10 muestras con SuperEba en 49 días.

En ningún estudio se han utilizado estos tres cementos a base de biosilicatos

En este estudio se utilizó el *E. Faecalis* ya que en otras investigaciones la bacteria más comúnmente encontrada en infecciones endodónticas persistentes asintomáticas en un 24 a 77% .Esto nos ayudara a entender que pasa con la colocación de estos cementos como barrera apical en presencia de *E faecalis*. (Stuart et al., 2006)

Los resultados de este estudio indican que los tres materiales a base de biosilicatos no evitan la filtración bacteriana de *E. Faecalis* los cuales concuerdan con los resultados obtenidos por Torabinejad et al., 1994

El MTA filtro 6 de 14 dientes dando un porcentaje del 42.85% el RRM putty con 5 de 14 dientes dando un porcentaje del 35,71% y por ultimo la Biodentina con 4 de 14 dientes dando un porcentaje del 28.57%.

Se tomaron en cuenta los errores potenciales sistemáticos en el laboratorio como describe Zender comentan que en 23 de los 67 estudios de microfiltración fueron separados las dos cavidades con cera pegajosa y en los cuales concluyen que la cera pegajosa, el cianocrilato al igual que la silicona y la resina epoxica son pobres sellantes entre el diente y la columna utilizada. (Zender et al., 2011. Rechenberg et al., 2011)

En el presente estudio se trato de reducir la mayor cantidad de variables para evitar errores como describe Zender et al., 2011, en los cuales se trato de solo mantener el caldo con la bacteria dentro del conducto y en contacto con la parte intraconducto del cemento sellador apical y no con la cera y el cianocrilato. Al igual que se pinto con barniz de uña la superficie externa de la raíz para evitar microfiltración bacteriana por medio de túbulos dentinarios abiertos o conductos laterales como describe Riccuci y Bergenholtz 2003, Ricucci et al., 2009. En los cuales encontraron bacterias en los túbulos dentinarios y han podido ser la causa de la microfiltración.

La metodología y resultado de muchos de los estudios in vitro puede ser cuestionada a como se puede comportar clínicamente. Según Torabinejad et al., 1996 solo los cementos a base de Eugenol han demostrado actividad antimicrobiana contra anaerobios estrictos. El pronóstico clínico va a depender en factores como acceso adecuado, control de hemorragia, preparación retrograda correcta, y llenado correcto, extensión de la enfermedad periodontal, trauma oclusal, fracturas verticales e istmos, calidad del material retrogrado, ángulo correcto, uso correcto del material retrogrado y respuesta individual del huésped.

En las condiciones de este estudio se cuidaron todos los factores mencionados anteriormente para simular las condiciones clínicas, no encontrando diferencias

estadísticamente significativa entre los 3 cementos. El de mas fácil colocación fue BCC RRM putty, esto se puede deber a que como ya viene mezclado se elimino la variable en la mezcla por parte del operador. Como puede suceder con el MTA y la Biodentine.



## **Conclusión**

En base a los resultados obtenidos y de acuerdo a la metodología utilizada se llegaron a las siguientes conclusiones

- 1) En el presente estudio se observó filtración de todos los cementos desde el 4to día hasta el día 20 luego no se demostró filtración bacteriana con ninguno de los cementos hasta el día 30.
- 2) El cemento que mostro menor filtración fue la Biodentina con 4 piezas filtradas un 28,57%, seguido de el BCC RRM putty con 5 piezas filtradas un 35.71% y por ultimo el MTA con 6 piezas filtradas y un 42.85%.
- 3) En la experiencia de este estudio el de mas fácil colocación y manipulación fue el RRM putty (Brassler), seguido del MTA que aunque es difícil de manipular y molesto para mezclar se puede modificar y mejorar, con la Biodentine en ninguna de las 2 capsulas pudimos obtener la consistencia deseada ya que la mezcla la realiza el amalgamador y la colocación es un poco complicada aunque las ventajas es que el fraguado es mas rápido que los otros 2.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Aqrawabi J . Sealing ability of amalgam, super EBA cement, and MTA when used as retrograde filling materials . Br Dent J .2000;188:266–268
- Amer Z. AlAnezi, DDS, MDS,<sup>a</sup> Jin Jiang, DDS, PhD,<sup>b</sup> Kamran E. Safavi, DMD, MEd,<sup>c</sup> Larz S. W. Spangberg, DDS, PhD,<sup>d</sup> and Qiang Zhu, DDS, PhD,<sup>e</sup> Farmington, Connecticut. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material
- Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Brink F. Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate. J Endod 2005;31:101–3.
- Asgary S, Parirokh M, Eghbal MJ, Stowe S, Brink F. A qualitative X-ray analysis of white and grey mineral trioxide aggregate using compositional imaging. J Mater Sci Mater Med 2006;17:187–91
- Belí'o-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chavez E. Phase composition of ProRoot mineral trioxide aggregate by X-ray powder diffraction. J Endod 2009;35:875–8. when used as a root end filling material. J Endod 1993;19:591–5.
- Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. Int Endod J 2007;40:462–70.
- Camilleri J, Montesin FE, Brady K, Sweeney R, Curtis RV, Ford TR. The constitution of mineral trioxide aggregate. Dent Mater 2005;21:297–303.
- Camilleri J, Pitt Ford TR. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. Int Endod J 2006;39:747–54.
- Chogle S, Mickel AK, Chan DM, Huffaker K, Jones JJ. Intracanal assessment of mineral trioxide aggregate setting and sealing properties. Gen Dent 2007;55: 306–11.

- Cristina Braga Xavier, Ruben Weismann, Marília Gerhardt de Oliveira Root-End Filling Materials: Apical Microleakage and Marginal Adaptation. *J Endod*. 2005 Jul;31(7):539-42.
  - Dammaschke T, Gerth HU, Züchner H, Schäfer E. Chemical and physical surface and bulk material characterization of white ProRoot MTA and two Portland cements. *Dent Mater* 2005;21:731–8.
  - Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2007;33:815–818
  - Enkel B, Dupas C, Armengol V, et al. Bioactive materials in endodontics. *Expert Rev Med Devices* 2008; 5:475–94.
- 
- Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Peçora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J* 2000; 11:3–Oral Radiol Endod 2006;101:258–61.
  - Ferk Luketic S, Malcic A, Jukic S, Anic I, Segovic S, Kalenic S. Coronal microleakage of two root-end filling materials using a polymicrobial marker. *J Endod* 2008;34:201–3.
  - Fischer EJ, Arens DE, Miller CH. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material and Super-EBA as a root-end material. *J Endod*. 1998; 24:176–179
  - Gancedo-Caravia L, Garcia-Barbero E. Influence of humidity and setting time on the push-out strength of mineral trioxide aggregate obturations. *J Endod* 2006; 32:894–6.
  - Gilheany PA, Figdor D, Tyas MJ. Apical dentin permeability and microleakage associated with root end resection and retrograde filling. *J Endod* 1994;20:22–6

- Hachmeister DR, Schindler WG, Walker WA 3rd, Thomas DD. The sealing ability and retention characteristics of mineral trioxide aggregate in a model of apexification. *J Endod* 2002;28:386–90.
  - Hoen MM, Pink FE. Contemporary endodontic retreatments: an analysis based on clinical treatment findings. *J Endod* 2002;28:834–6.
- 
- Holt GM , Dumsha TC . Leakage of amalgam, composite and Super-EBA, compared with a new retrofill material: bone cement. *J Endod*. 2000;26:29–31
- 
- Kazemi RB, Safavi KE, Spa°ngberg LS. Dimensional changes of endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76:766–71.
- 
- Kim S, Pecora G, Rubinstein R. Comparison of traditional and microsurgery in endodontics. In: Kim S, Pecora G, Rubinstein R, eds. *Color atlas of microsurgery in endodontics*. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001:5–11.
  - Kim S. Principles of endodontic microsurgery. *Dent Clin North Am* 1997;41:481–97.
- 
- Kishen A, George S, Kumar R. Enterococcus faecalis-mediated biomineralized biofilm formation on root canal dentine in vitro. *J Biomed Mater Res A*. 2006;77:406–415
- 
- Lawley GR, Schindler WG, Walker WA 3rd, Kolodrubetz D. Evaluation of ultrasonically placed MTA and fracture resistance with intracanal composite resin in a model of apexification. *J Endod* 2004;30:167–72.
  - Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. Biofilm formation capability of Enterococcus faecalis cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite. *J Endod*. 2010;36:630-5.

- 
- Mangin C, Yesilsoy C , Nissan R , Stevens R . The comparative sealing ability of hidroxyapatite cement, mineral trioxide aggregate and super ethoxybenzoic acid as root-end filling materials. J Endod. 2003; 29:261–264
- 
- Martell B, Chandler NP . Electrical and dye leakage comparison of three root-end restorative materials. Quint Int. 2002; 33:30–34
- 
- Moretton TR, Brown CE Jr, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. J Biomed Mater Res 2000; 52:528–33.
- 
- Ng YL, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature: part 2—influence of clinical factors. Int Endod J 2008; 41:6–31.
- 
- Orstavik D. Weight loss of endodontic sealers, cements and pastes in water. Scand J Dent Res 1983; 91:316–9
- 
- Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, et al. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J. 2003; 36:1–11
- 
- Ribeiro DA. Do endodontic compounds induce genetic damage? a comprehensive review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008; 105:251–6.
- 
- Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. Dent Mater 2008; 24:149–64.
- 
-

- Rôças IN, Jung IY, Lee CY, et al. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. J Endod. 2004;30:504–508
- 
- Septodont R&D department Biodentine Active Biosilicate Technology, Scientific File, (pag. 4-33).
- 
- Siqueira JF Jr, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. J Endod 2008;34:1291–301.
  - Siqueira JF , Rôças IN , Abad EC , Castro AJR , Gahyva SM , Favieri A . Ability of three root-end filling materials to prevent bacterial leakage. J Endod. 2001;27:673–675
- 
- Sluyk SR, Moon PC, Hartwell GR. Evaluation of setting properties and retention characteristics of mineral trioxide aggregate when used as a furcation perforation repair material. J Endod 1998;24:768–71.
- 
- Starkey DL , Anderson RW , Pashley DH . An evaluation of the effect of methylene blue dye pH on apical leakage. J Endod .1993;19:435–43
- 
- Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, et al. Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod. 2006;32:93–98
  - Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. J Endod1999;25:197–205.
- 
- Torabinejad M , Higa RK , McKendry DJ , Pitt Ford TR . Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. J Endod. 1994;20:159–163
-

- 
- Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* 1995;21:349–53.
- 
- Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod*. 2010 Feb;36(2):190-202
- 
- Torabinejad M, Pitt Ford TR. Root end filling materials: a review. *Endod Dent Traumatol* 1996;12:161–78.
  - Torabinejad M, Rastegar AF, Kettering JD, Pitt Ford TR. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1995;21:109–12.
- 
- Von Arx T, Hänni S, Jensen SS. Clinical results with two different methods of root-end preparation and filling in apical surgery: mineral trioxide aggregate and adhesive resin composite. *J Endod*. 2010 Jul;36(7):1122-9. Epub 2010 May 24.
- 
- Walker MP, Diliberto A, Lee C. Effect of setting conditions on mineral trioxide aggregate flexural strength. *J Endod* 2006;32:334–6.
  - Wilkinson KL, Beeson TJ, Kirkpatrick TC. Fracture resistance of simulated immature teeth filled with resilon, gutta-percha, or composite. *J Endod* 2007;33:480–3.
-